

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jeannine GYR

1^{re} THÈSE. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS
LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 1961, devant la Commission d'examen.

MM. ULRICH..... *Président.*
MOYSE..... } *Examineurs.*
HELLER..... }

PARIS

LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT

4, RUE DANTE, 4

1961

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

PAR

Jeannine GYR

1^{re} THÈSE. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS
LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

1961, devant la Commission d'examen.

MM. ULRICH..... *Président.*
MOYSE.....
HELLER } *Examineurs.*

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4

1961



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen..... M. J. PÈRÈS

Professeurs :

G. JULIA	T	Anal. sup. et alg. sup.	FORTET	T	Calcul des probabilités.
DE BROGLIE...	T	Théories physiques.	SCHWARTZ ...	T	Calcul, diff. et intégral.
PRENANT	T	Anat. et histol. comparées.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
PÈRÈS	T	Mécan. des fl. et applie.	MALAVARD ...	T	Aviation (Tech. aéronaut.)
BOURCART ...	T	Géog. phys. et géol. dyn.	BRELOT	T	Calcul différentiel.
PLANTEFOL...	T	Botanique.	NORMANT	T	Synthèse organique gén.
GRASSÉ	T	Evol. des êtres organisés.	BENARD	T	Chimie (E.N.S.C.P.).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
BOULIGAND ..	T	Anal. appl. à la géométrie.	DUGUÉ	T	Statist. mathématiques.
CHAUDRON ...	T	Chimie appliquée.	SOULAIRAC ...	T	Psychophysologie.
WYART	T	Minéralogie et cristallogr.	ULRICH	T	Physiol. végét. (E.N.S.).
TEISSIER.....	T	Zoologie.	MARÉCHAL....	T	Optique théor. et appl.
MANGENOT....	T	Biologie vég. (Orsay).	KIRRMANN ...	T	Théories chimiques.
AUGER	T	Phys. quant. et relativité.	CHADEFAUD ..	T	Botanique.
MONNIER	T	Physiol. des fonctions.	M ^{lle} LE BRETON	T	Physiologie.
PIVETEAU	T	Paléontologie.	SALEM	T	Mathémat. générales.
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).	LELONG	T	Mathémat. générales.
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).	DEVILLERS ...	T	Anatom. et histol. comp.
LAFFITTE	T	Chimie générale.	EHRESMANN ...	T	Topologie algébrique.
FAVARD	T	Géométrie supérieure.	FRANCON	T	Physique (S.P.C.N.).
COULOMB	T	Physique du Globe.	GLANGEAUD ...	T	Géogr. phys. et géol. dyn.
M ^{lle} COUSIN ...	T	Biologie.	GODEMENT ...	T	Mathématiques (M.P.C.).
CHRÉTIEN ...	T	Chimie minérale.	PISOT	T	Calcul des probabilités.
DRACH	T	Zoologie.	ROCH	T	Géologie.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.).	SCHATZMAD....	T	Astrophysique.
EPHRUSSI ...	T	Génétique.	TERMIER	T	Paléontol. stratigraph.
RIVIÈRE	T	Géologie (Orsay).	ZAMANSKY....	T	Mathémat. générales.
GAUTHERET... T		Biologie (P.C.B.).	LENNUIER ...	T	Physique (P.C.B.).
R. LUCAS	T	Recherches physiques.	RIZET	T	Génétique (Orsay).
A. THOMAS ...	T	Biologie cellulaire.	ROUTHIER ...	T	Géologie appliquée.
ARNULF	T	Optique appliquée.	M ^{me} TONNELAT ..	T	Relativité.
MORAND	T	Physique enseignement	DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.).
SOLEILLET ...	T	Physique (P.C.B.).	SOUCHAY	T	Chimie (P.C.B.).
FORTIER	T	Mécan. expér. des fluides.	AIGRAIN	T	Electrotech. générale.
DANJON	T	Astronomie.	BRUSSET	T	Chimie minérale.
PETIT	T	Biologie maritime.	M. LÉVY	T	Physique : théorique des
QUENEY	T	Météorol. et dyn. atmosph.			Hautes Energies (Orsay)
GALLIEN	T	Embryologie.	M ^{me} CHAIX	T	Chimie biologique.
EICHHORN ...	T	Biologie végétale (P.C.B.).	M ^{me} HUREL-PY ..	T	Biologie végétale (P.C.B.).
DE CUGNAC ...	T	Biologie végét. (S.P.C.N.).	PIAUX	T	Chimie (S.P.C.N.).
M ^{lle} CAUCHOIS ..	T	Chimie physique.	BRUN	T	Mécan. expér. des fluides.
THELLIER ...	T	Physique du globe.	LEDERER	T	Chimie biologique.
L'HERITIER... T		Biolog. gén. (Orsay.)	M ^{me} DUBREIL ...	T	Mathémat. (Aggeg.).
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay).	M ^{me} LE LONG ...	T	Mathémat. (E.N.S.).
PONCIN	T	Mécanique générale.	GELLAI	T	Géologie (S.P.C.N.).
DUBREIL	T	Arith. et théor. des nombr.	COTTE	T	Physique (M.P.C.).
QUELET	T	Chimie organique.	J. E. DUBOIS ..	T	Chimie (M.P.C.).
CAGNIARD....	T	Géophysique appliquée.	LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.).
CHAMPETIER..	T	Chimie macromoléculaire.	A. MICHEL ...	T	Chimie minérale (Orsay).
CUVILLIER ...	T	Micropaléontologie.	OLMER	T	Energétique générale.
JUNG	T	Pétrographie.	ROUAULT	T	Physique.
TRILLAT	T	Microscop. et diff. élect.	GAUTHIER ...	T	Mécanique appliquée.
WIEMANN	T	Chimie organ. et struct.	BARCHEWITZ..	T	Chimie physique.
JACQUINOT ...	T	Spectroscopie (Orsay).	BROSSEL	T	Physique atomique
VASSY	T	Phys. de l'atmosphère.	BUSER	T	Biologie animale (P.C.B.).
DESTOUCHES ..	T	Théories physiques.	CAMUS	T	Biologie végétale (P.C.B.).
PRUVOST	T	Géologie.	CASTAING	T	Physique (Orsay).
AMIEL	T	Chimie des solides.	CURIEN	T	Minéral. et cristall.
HOCART	T	Minéralogie et cristallogr.	MOYSE	T	Physiol. végét. (Orsay).
J.-P. MATHIEU	T	Recherches physiques.	PANNETIER... T		Chimie (Orsay).
COUTEAUX	T	Biol. animale (P.C.B.).	POSSOMPES ...	T	Biol. animale (P.C.B.).
MAY	T	Zoologie (Orsay).	PULLMANN ...	T	Chimie théorique.
CHOUQUET ...	T	Théor. des fonct. et topol.	TEILLAC	T	Phys. nucl. et rad. (Orsay)
FELDMANN ...	T	Biologie végét. (P.C.B.).	TONNELAT ...		Biologie physico chim.
GUINIER	T	Phys. des solides (Orsay)	VILLE	T	Econométrie.
JOST	T	Physiologie comparée.	WILLEMART...		Chimie (P.C.B.).

DODE	T	Chimie (Orsay).	BERTEIN	Electronique (Orsay).
FREYMANN	T	Physique (S.P.C.N.).	BOUSSIÈRES	Chim. des radioéléments. (Ors.)
GUINOCHET	T	Biologie vég. (Orsay).	M ^{me} COUTURE	Therm. et mécan. phys.
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.).	ELLENBERGER	Géologie appliquée.
Mlle JOSIEN.....	T	Chimie (P.C.B.).	FRANC.....	Biol. animale (P.C.B.).
CHEVALLEY.....	T	Géom. alg. et théor. d. gr.	SCHNELL.....	Botan. tropicale (Orsay).
ARNOULT	T	Electronique (Orsay).	STOLKOWSKI.....	Biol. animale (P.C.B.).
CHAPELLE.....	T	Physique (Orsay).	ACHER	Chimie biol. (Orsay).
DELANCE	T	Mathémat. (Orsay).	BAUDOUIN.....	Biologie.
DENY	T	Mathémat. gén. (Orsay).	BEAUMONT ...	Biologie animale.
GERMAIN.....	T	Mécan. théor. des fluides.	BLAMONT	Géophysique ionosphère.
G. LUCAS	T	Géologie.	BOURREAU.....	Biol. vég. (S.P.C.N (Orsay)
ALLARD.....	T	Chimie physique.	D. CURIE	Physique (M.G.P.).
BERTHELOT ..	T	Phys. fondam. des htes énergies (Orsay).	DURAND-DELGA	Géologie.
BRICARD	T	Météorologie.	FRÉON.....	Chimie organ. (Orsay).
M ^{me} ALBE- FESSARD.		Psychophysiologie.	HELLER	Physiologie végétale.
FRIEDEL		Phys. des solides (Orsay).	TORTRAT.....	Calcul des probabilités.
M. JULIA.....		Chimie organ. structurale.	CAILLEUX ...	Géologie (S.P.C.N.).
LENDER		Biol. animale (SPCN) (Ors.)	MAGNAN	T
MAGAT		Phys.-chimie des rayonn.	DAUDEL	Physique (P.C.B.).
M ^{lle} QUINTIN	T	Electrochimie.		Mécan. ondul. appliquée à la chim. théor. et à la phys. nucléaire.
MONOD.....	T	Biochimie cellulaire.	M ^{lle} FOURCROY	Biol. végét. (S.P.C.N.).
BENOIT	T	Physiol. anim. (Orsay).	BARRAUD	Physiologie cellulaire.
DE POSSEL ..	T	Analyse numérique.	NOIROT	Evol. des êtres organisés.
CHARLOT.....	T	Chimie analytique.	M ^{me} FOURÈS- BRUHAT	
HAISSINSKY ..	T	Radiochimie.	M ^{lle} VEIL.....	T
LEMÉE	T	Physiol. B.M.P.V. (Orsay)	LWOFF	Mécan. anal. et mécan. cél.
M. CHATELET .		Chimie (Orsay).	SIESTRUNCK .	Physiologie générale.
GUÉRIN.....	T	Chimie (P.C.B.).	LACOMBE	T
M. CHATELET .		Physique (Orsay).	BROCHARD ...	Mécan. phys. et expérim.
JEAN		Physique (Orsay).	CABANNES ...	T
MATTLER	T	Phys. théorique (Orsay).	LESIEUR	Physique P.C.B. (Orsay).
Louis MICHEL		Chimie (P.C.B.).	MAZET.....	T
RUMPF		Biol. anim. (SPCN) (Ors.).		Mécanique générale (Orsay)
BERGERARD...				

Secrétaire général R. POULLAIN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L.

par Mlle Jeannine GYR

RÉSUMÉ

Les variations quantitatives des acides organiques des feuilles de Pelargonium peltatum L. sont étudiées en fonction de l'éclairement, de la température et de la composition de l'atmosphère (tension partielle de CO_2 et d' O_2), afin de dégager les relations de leur métabolisme avec la photosynthèse et les oxydations cellulaires. Les feuilles fixent du $^{14}\text{CO}_2$, ou absorbent, soit du glucose U^{14}C , soit de l'acétate 2^{14}C .

Le métabolisme des acides organiques dans ces feuilles est comparable à celui qui se déroule dans les feuilles des plantes grasses : désacidification en éclaircissement prolongé, acidification en présence d'une atmosphère enrichie en CO_2 . Il est cependant moins rapide. Il est également moins sensible à la température. Enfin il n'est pas caractérisé par une accumulation d'acides citrique et isocitrique. Les similitudes concernent essentiellement l'acide malique, dans son accumulation comme dans sa genèse (β -carboxylation).

Le métabolisme de l'acide tartrique est beaucoup plus lent que celui de l'acide malique. L'acide tartrique ne présente pas de variations quantitatives nyctémérales. Sa genèse est indépendante de celle de l'acide malique et des oxydations du cycle tricarboxylique. Il se forme vraisemblablement par une voie d'oxydation directe des oses.

AVANT-PROPOS

Les recherches qui font l'objet de cet exposé ont été réalisées au Laboratoire de Photosynthèse du Centre National de la Recherche Scientifique à Gif-sur-Yvette.

Elles ont été entreprises à l'instigation de M. A. MOYSE, Professeur à la Sorbonne et Directeur du Laboratoire de Photosynthèse. L'aide morale et matérielle que m'a toujours apportée ce Maître de la Physiologie Végétale, les précieux conseils qu'il m'a toujours prodigués, m'ont été d'un réconfortable concours tout au long de mes travaux. Grâce à son enseignement éclairé,

j'ai pu mener cette expérience à son terme avec l'assurance de l'élève qui suit un bon guide. Qu'il trouve ici l'expression de mon respect et de ma profonde reconnaissance.

M. le Professeur R. COMBES, Membre de l'Institut, Professeur Honoraire à la Sorbonne, a suivi mon travail avec une attention qui l'honore. Je l'en remercie vivement.

Je remercie également M. le Professeur L. PLANTEFOL, Membre de l'Institut, Professeur de Botanique à la Sorbonne, pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail.

Je tiens à adresser à M. R. ULRICH, Professeur à la Sorbonne, qui s'est intéressé à mes recherches et qui m'a fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury, l'expression de ma respectueuse gratitude.

Que M. R. HELLER, Professeur à la Sorbonne, qui a bien voulu faire partie de mon Jury, soit assuré ici de mes sincères remerciements.

Je remercie, en outre, Mme G. JOLCHINE, Ingénieur au C.N. R.S., qui m'a initiée aux techniques d'analyses des acides organiques.

Que tous mes collègues qui m'ont fait profiter de leur expérience lors de la mise au point des techniques nécessaires aux recherches, que tous les techniciens et le personnel du Laboratoire de Photosynthèse, soient assurés de toute ma reconnaissance.

Par ailleurs, je tiens à exprimer à MM. les Directeurs du Centre National de la Recherche Scientifique ma profonde gratitude pour leur aide matérielle qui m'a permis d'effectuer ce travail.

INTRODUCTION

I. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FEUILLES DE GERANIACÉES (1)

La présence d'acide malique a été signalée depuis longtemps dans les feuilles de *Pelargonium zonale* L. (voir KLEIN, 1932). D'après PURIEWITSCH, cité par MOLLIARD (1923), lorsque la température est moyenne, le quotient respiratoire (QR) des feuilles de *Pelargonium zonale* est < 1 . Lorsque la température s'élève, ce QR augmente et tend vers l'unité. Cette variation, du QR est parallèle à celle que PURIEWITSCH a observée avec des feuilles de *Sedum*, et à celles que THOMAS et coll. (1954) ont observées chez d'autres plantes grasses. Chez ces dernières, les variations du QR sont liées aux variations d'acidité. Lorsque les plantes accumulent des acides à une température moyenne, à l'obscurité, leur QR est < 1 . Lorsque la température s'élève et que l'acidification décroît, le QR tend vers l'unité. Il est possible que les variations du QR chez le *Pelargonium zonale* L. soient aussi liées au métabolisme des acides organiques.

THOMAS (1951, a) range le *Pelargonium peltatum* L. parmi les espèces qui ont la propriété d'accumuler de l'acide malique, sans présenter de variations nyctémérales d'acidité.

BENNET-CLARK (1933) rapporte que KRAUS en 1883 a trouvé une augmentation d'acidité de 700% à l'obscurité dans les feuilles de *Geranium pratense* L., espèce montagnarde soumise à des variations de température importantes au cours de la journée et de la nuit. Par contre, THOMAS et coll. (1949) n'ont pas constaté de fluctuations d'acidité dans les feuilles de cette dernière espèce. Ces Géraniacées semblent donc se différencier au moins quantitativement des Crassulacées, à propos du métabolisme de leurs acides organiques.

(1) *Abréviations* : ADP : ac. adénosine-diphosphorique ; ATP : ac. adénosine-triphosphorique ; DPN^+ : diphosphopyridine-nucléotide oxydé ; $\text{DPNH} + \text{H}^+$: diphosphopyridine-nucléotide réduit ; IDP : ac. inosine-diphosphorique ; ITP : ac. inosine-triphosphorique ; PEP : ac. phosphoénolpyruvique ; PGA ; ac. phosphoglycérique ; RuDP : ribulose-diphosphate ; TPN^+ : triphosphopyridine-nucléotide oxydé ; $\text{TPNH} + \text{H}^+$: triphosphopyridine-nucléotide réduit.

II. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FEUILLES DE CRASSULACÉES

L'acidité des feuilles de Crassulacées (*Bryophyllum*, *Sedum*, *Crassula*, *Kalanchoë*) augmente pendant la nuit et décroît pendant le jour. Ces variations nycthémérales d'acidité ont été observées chez des espèces succulentes appartenant à d'autres familles : Cactacées, Euphorbiacées, Asclépiadacées, Bégoniacées, Composées, Orchidées et Broméliacées (BENNET-CLARK, 1933 ; BONNER et coll., 1948).

Plusieurs exposés d'ensemble ont été consacrés à cette question (WOLF, 1949 ; THOMAS, 1951, a et b ; MOYSE, 1957 ; BRUINSMA, 1958 ; RANSON et coll., 1960 ; WOLF, 1960). Aussi seuls les points essentiels seront-ils retracés ici.

A l'obscurité, les feuilles de Crassulacées accumulent surtout de l'acide malique. Cette accumulation se poursuit pendant 10 à 15 heures. Le maximum d'acidité est alors atteint. Si les plantes sont maintenues à l'obscurité, il se produit une désacidification.

A la lumière, dans les conditions naturelles ou dans des conditions voisines, les quantités des acides présents dans les tissus diminuent. Cette désacidification est due en majeure partie à la disparition d'une fraction de l'acide malique. A la lumière, le carbone de l'acide malique serait repris par la photosynthèse. Les variations inverses, à la lumière et à l'obscurité, de la teneur en acides organiques et de la teneur en amidon, ont été étudiées dans les feuilles de *Bryophyllum calycinum* par PUCHER et coll. (1947, 1949).

Les basses températures sont favorables à l'accumulation des acides organiques tandis qu'une élévation de la température accélère la diminution de leur quantité (WOLF, 1931, 1938 ; BONNER et coll., 1948 ; SOMERS, 1951).

L'acidification est accompagnée d'une absorption d'O₂ et de CO₂. DE SAUSSURE (1804) a le premier observé cette absorption simultanée d'O₂ et de CO₂, à l'obscurité, par les raquettes d'*Opuntia*. C'est seulement beaucoup plus tard que ce fait fut lié à l'accumulation d'acides.

Les premiers auteurs, dont PFEFFER (cf. THOMAS, 1949), pensaient que l'accumulation d'acides à l'obscurité provenait d'une oxydation incomplète des glucides, due à une déficience en O₂ dans l'atmosphère interne des feuilles.

Le rôle essentiel du CO₂ a été mis en évidence par WOLF (1931), BONNER et coll. (1948), THOMAS et coll. (1949, 1954). Ces auteurs ont démontré qu'il y a une fixation de CO₂ pendant l'acidification : et THOMAS a suggéré que cette fixation se faisait par une

β -carboxylation semblable à la réaction de WOOD et WERKMAN (WERKMAN et coll., 1949). Il a démontré que les variations nyctémérales d'acidité sont liées, en partie au moins, aux variations de la tension de CO_2 dans l'atmosphère interne des feuilles. Cette tension s'élève à l'obscurité à la suite des oxydations respiratoires et devient au contraire très faible à la lumière, lorsque le CO_2 est engagé dans la photosynthèse. A la lumière, il y aurait compétition entre la β -carboxylation et la photosynthèse. Il n'y aurait alors plus assez de CO_2 pour que la β -carboxylation soit active : et la dégradation de l'acide malique l'emporterait sur sa synthèse, d'où désacidification des tissus. THOMAS a montré que l'on pouvait provoquer une acidification à la lumière par enrichissement de l'atmosphère en CO_2 .

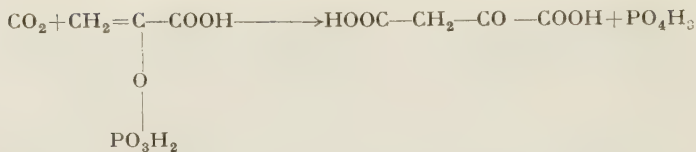
L'étude détaillée de l'action de l' O_2 a été faite par MOYSE (1955, a, b), qui a suivi parallèlement les échanges de gaz et les variations d'acidité des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* en fonction de la tension partielle d' O_2 dans l'atmosphère. A l'obscurité, en anaérobiose, presque complète ($\text{O}_2 < 0,1\%$), les gains d'acidité sont faibles. La fixation du CO_2 et l'augmentation d'acidité sont d'autant plus rapides que la tension d'oxygène est plus élevée. La synthèse des acides est liée à l'intensité des oxydations respiratoires. A la lumière, les pertes en acides, faibles dans l'azote, augmentent rapidement lorsque la tension d' O_2 s'élève. Les variations des teneurs en acides malique, citrique et isocitrique en fonction de la tension partielle d' O_2 , à la lumière et à l'obscurité, ont été suivies par MOYSE et coll. (1956). Leur disparition comme leur genèse est liée aux oxydations cellulaires.

L'emploi du $^{14}\text{CO}_2$ a confirmé les travaux de THOMAS. C'est ainsi que THURLOW et coll. (1948), VARNER et coll. (1950), STUTZ et coll. (1951), RANSON (1954), MOYSE et coll. (1957) ont montré qu'à l'obscurité la plus grande partie du $^{14}\text{CO}_2$ est fixée dans l'acide malique.

Cette fixation a été mise aussi en évidence chez d'autres végétaux par BENSON et coll. (1950), GIBBS (1951), WOOD (1951), OCHOA (1951, 1953), POEL (1952), VENNESLAND et coll. (1952), RANSON (1954). C'est l'importance de la fixation qui caractérise les Crassulacées.

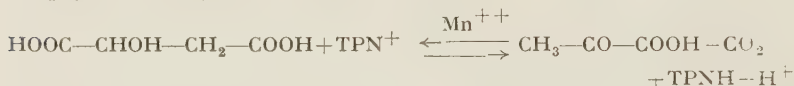
La fixation du CO_2 et la genèse d'acide malique par β -carboxylation peuvent être catalysées par plusieurs enzymes :

1) La phosphoénol-pyruvate-carboxylase, isolée à partir de feuilles d'Épinards, par BANDURSKI et coll. (1953) et par BANDURSKI (1955), catalyse la réaction non réversible :



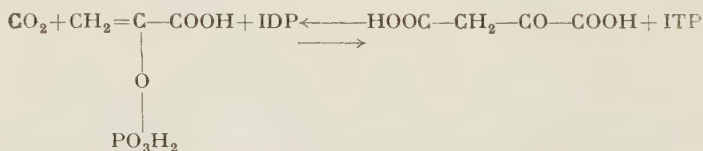
Cette réaction n'exige pas d'ATP. L'enzyme a été mise en évidence dans les feuilles de *Kalanchoë crenata* et de *Sedum spectabile* par WALKER (1956, 1957), dans les feuilles de *Bryophyllum calycinum* par SALTMAN et coll. (1956), dans le germe de Blé par TCHEN et coll. (1955) et dans les chloroplastes de *Bryophyllum Daigremontianum* par JOLCHINE (1).

2) L'enzyme malique, isolée par OCHOA et coll. (1947) du foie de pigeon, catalyse la réaction d'équilibre :



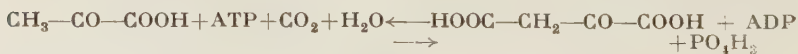
Cette enzyme a été trouvée dans divers tissus végétaux (CONN et coll., 1949 ; VENNESLAND, 1949 ; VENNESLAND et coll. 1949 ; CLENDENNING et coll., 1952).

3) L'oxalacétate-carboxylase de UTTER et KURAHASHI (1954), isolée du foie de pigeon, catalyse, en présence d'ATP ou d'ITP, la réaction d'équilibre :



Cette enzyme a été retrouvée dans les germes de Blé (TCHEN et coll., 1955).

4) La pyruvate-carboxylase de UTTER et KEECH (1960), isolée des foies de bœuf et de poulet. Cette enzyme est différente de l'enzyme malique et de l'oxalacétate-carboxylase. Elle catalyse la réaction :



La présence de la coenzyme A serait indispensable. Cette carboxylase n'a pas été trouvée dans les végétaux.

(1) Non publié.

La fixation du CO_2 dans les carboxyles a été confirmée par l'étude de la répartition du radiocarbone dans la molécule d'acide malique. BRADBEER et coll. (1958) avec des feuilles de *Kalanchoë crenata* et de *Bryophyllum calycinum*, JOLCHINE (1959) avec des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* ont constaté en fait que les deux carboxyles sont marqués et pas seulement le β -carboxyle. A l'obscurité, l'intégration de radiocarbone est deux fois plus élevée dans le 4-COOH que dans le 1-COOH. Ces mêmes observations ont été faites aussi par RACUSEN (1953) avec des feuilles de Tabac et de Soja qui appartiennent à des espèces non succulentes. Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer la présence de ^{14}C en position 1 : action de la fumarase, intervention du cycle glyoxylique (KORNBERG et coll., 1957 a) et enfin carboxylation du RuDP.

Selon cette dernière hypothèse, la plus probable, étant donné les proportions du ^{14}C dans les 2 carboxyles, il se produirait deux carboxylations successives :

1) une carboxylation du RuDP analogue à la carboxylation photosynthétique (BASSHAM et coll., 1954), donnant 2 molécules de PGA dont une seule est radioactive.

2) La β -carboxylation du PEP, dérivant de ces 2 molécules de PGA.

Le RuDP nécessaire peut se former à l'obscurité par oxydation partielle du glucose-6-phosphate par la voie des pentoses-phosphates. Etant donné les grandes quantités d'acide malique que les feuilles de Crassulacées peuvent accumuler à l'obscurité, ces plantes doivent avoir la possibilité de se procurer des quantités correspondantes de RuDP. Il se pourrait que leur réserve de sédoheptulose constitue une source potentielle de RuDP (MOYSE, 1959).

Les fluctuations d'acidité n'intéressent pas seulement l'acide malique mais aussi les acides citrique et isocitrique (WOLF, 1939 ; PUCHER et coll., 1947, 1949 ; VICKERY, 1952). Les variations quantitatives des différents acides organiques (citrique, isocitrique, succinique, etc.) des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* sont aussi fonction de la tension d' O_2 (MOYSE et coll., 1956). A l'obscurité, après 6 minutes d'exposition au $^{14}\text{CO}_2$, outre l'acide malique, les premiers acides marqués sont les acides citrique et fumarique. Les autres acides ne sont pas radioactifs. Chez les Crassulacées, le cycle des acides tricarboxyliques fonctionne lentement par rapport à la vitesse de la β -carboxylation (STUTZ et coll., 1951 ; MOYSE et coll., 1957). A la lumière, les acides citrique, isocitrique et glutamique sont beaucoup plus radioactifs qu'à l'obscurité, la lumière accélérant les oxydations du cycle tricarboxylique

(CHAMPIGNY et coll., 1957). Plusieurs auteurs ont constaté que les oxydations du cycle des acides tricarboxyliques sont au moins aussi intenses à la lumière qu'à l'obscurité. Des *Scenedesmus*, alimentés en pyruvate le métabolisent aussi rapidement dans les deux cas (MILHAUD et coll., 1956). La glutamine absorbée par des feuilles de Blé, est plus rapidement oxydée à la lumière qu'à l'obscurité (BIDWELL et coll., 1955). De même la lumière accélère le métabolisme du glutamate absorbé par des feuilles d'Orge (NAYLOR et coll., 1956) ou par des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* (CHAMPIGNY, 1960). Ceci infirme la première hypothèse de CALVIN selon laquelle les oxydations du cycle tricarboxylique seraient inhibées par la lumière (CALVIN, 1956).

Dans le travail qui suit j'ai étudié le métabolisme de l'acide malique dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* L., afin de voir si l'on pouvait obtenir des variations d'acidité importantes en fonction de l'éclairement et de la tension partielle de CO_2 et d' O_2 .

Ayant ainsi constaté que ce métabolisme est analogue à celui que l'on peut observer dans les feuilles de Crassulacées, j'ai étudié le mécanisme de la β -carboxylation en fonction de l'éclairement et de la tension partielle d' O_2 , et ses rapports avec la photosynthèse et les oxydations respiratoires.

J'ai fait aussi une analyse des autres acides organiques des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. Ayant remarqué, dès le début de mes recherches, que l'acide tartrique est le plus abondant après l'acide malique, j'ai tenté de préciser les conditions de sa genèse (éclairement, tension partielle d' O_2) et, par l'emploi de précurseurs marqués (glucose, acétate), de préciser son origine.

MÉTHODES ET TECHNIQUES

Les expériences relatées ci-dessous ont été faites avec des limbes de feuilles de *Pelargonium peltatum* L. prélevés sur des pieds appartenant à un même clone. Les plantes sont cultivées en pleine terre pendant la belle saison, en serre, pendant l'hiver. Les feuilles choisies sont adultes, elles sont charnues. Il s'agit des feuilles n° 4 ou 5, l'origine étant attribuée à la plus jeune feuille épanouie du rameau. La longueur du limbe, depuis le point d'insertion du pétiole jusqu'au sommet est de $4 \text{ cm} \pm 0,5 \text{ cm}$.

I. — TRAITEMENT DES FEUILLES DÉTACHÉES

Les limbes sont pesés, ce qui donne le poids de substance fraîche, puis mis en contact avec différents mélanges de gaz et, éventuellement, avec du $^{14}\text{CO}_2$, dans des ampoules de verre ou des dessiccateurs.

Les mélanges gazeux, air + 5% de CO_2 , N_2 + 2% d' O_2 , etc., sont préparés et introduits dans les enceintes à expérience selon les techniques manométriques de MOYSE (1955 a).

La technique de MOYSE et coll. (1957) est utilisée lorsque les limbes sont exposés au $^{14}\text{CO}_2$ obtenu à partir de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$.

Des limbes témoins sont prélevés en même temps que les limbes traités. Ils sont pesés à l'état frais, puis à l'état sec après dessiccation à 100°C . La teneur en eau ainsi déterminée permet de ramener tous les résultats à 1 g de substance sèche foliaire.

II. — ANALYSES

A) FIXATION - EXTRACTIONS - FRACTIONNEMENTS

Après chaque traitement les limbes sont fixés pendant 15 mn dans l'alcool méthylique bouillant.

Les limbes sont séparés de l'alcool de fixation et séchés dans une étuve à 35°C . Ils sont ensuite broyés au mortier et la poudre ainsi obtenue est traitée à deux reprises par l'alcool méthylique à 50% d'eau, à ébullition pendant 15 mn. Après filtration, le résidu insoluble est desséché et conservé pour l'étude de la fraction insoluble. Les trois extraits hydroalcooliques sont réunis et l'alcool

est éliminé par distillation sous pression réduite à 37° C. La solution aqueuse obtenue est alors fractionnée à l'aide d'échangeurs d'ions selon la technique de JOLCHINE (1956).

Le passage de l'extrait aqueux sur une colonne de résine cationique (Duolite C₂₀) permet de fixer les cations minéraux et les acides aminés. L'éluat est versé sur une colonne de résine anionique (Duolite A₆) qui retient les ions acides (acides organiques et composés phosphorylés). Les glucides, les peptides et les constituants neutres sont recueillis dans l'effluent (solution a).

Les acides aminés sont élués de la Duolite C₂₀ par une solution aqueuse d'ammoniaque N (solution b).

Les composés acides, fixés sur la Duolite A₆, en sont déplacés sous forme de sels de Na avec une solution de NaOH N. Les sels de Na sont alors traités par une résine cationique (Duolite C₂₀) qui fixe le sodium, libérant les substances acides (solution c).

Les trois solutions (a, b, c) sont concentrées sous pression réduite à 37° C, puis soumises à l'analyse.

B) ANALYSE DE L'EXTRAIT SOLUBLE.

1) Séparation par chromatographie sur papier et caractérisations.

Les séparations sont faites par chromatographie descendante, bidimensionnelle sur papier Whatman n° 1. L'identification des différentes substances est basée sur leur R_f, sur des colorations spécifiques, et le cas échéant sur la cochromatographie avec une substance témoin.

a) *Glucides libres (solution a)* : les solvants employés sont dans la 1^{re} dimension : le phénol saturé d'eau et dans la 2^e dimension : le mélange butanol-acide acétique-eau (4/1/5), (PARTRIDGE, 1948).

La révélation des glucides est faite avec la para-anisidine-phosphate selon MUKHERJEE et coll. (1952).

Les heptuloses donnent avec l'orcinol trichloracétique une coloration bleue caractéristique (KLEVSTRAND et coll., 1950). Avec ce réactif, les hexuloses (fructose) se colorent en jaune.

b) *Acides aminés (solution b)* : dans la 1^{re} dimension, le phénol saturé d'eau est utilisé, en présence de vapeurs ammoniacales, et dans la 2^e dimension le mélange butanol-acide acétique-eau (4/1/5) (CONSDEN et coll., 1944).

Les acides aminés sont révélés avec une solution de ninhydrine à 0,1% dans le butanol (DENT, 1948) et identifiés par cochromatographie avec des témoins en suivant les indications de CHAMPIGNY (1960).

c) *Acides organiques et composés phosphorylés (solution c) :*

1. *Acides organiques.*

Les solvants utilisés sont dans la 1^{re} dimension, le phénol saturé d'eau, ou le mélange éthanol à 95° G L — ammoniacal à 22° Bé-eau (80/5/15) ; et, dans la 2^e dimension, le mélange butanol - acide formique - eau (100/24/12) (CHEFTEL et coll, 1952).

Le révélateur le plus fréquemment employé est le bleu de bromophénol. Les indications de JOLCHINE (1956) et la carte de référence de CARLES et coll. (1958) sont utilisées en première approximation. La nature des acides est précisée par cochromatographie. Des colorations et des réactions spécifiques sont également faites lorsqu'il est nécessaire :

Acide tartrique : coloration orangée caractéristique en présence de vanadate d'ammonium (BUCH et coll., 1952).

Acide shikimique (1) : le chromatogramme est aspergé avec une solution de periodate de sodium puis avec une solution d'aniline. L'acide shikimique donne une tache rouge sur fond paille (YOSHIDA et coll., 1957).

Acide isocitrique (2) : on le caractérise par sa lactone qui est faite directement sur papier (BOVE et coll., 1957). La tache d'acide isocitrique, additionnée d'une microgoutte d'acide sulfurique est mise une heure à l'étuve à 100° C. Puis le chromatogramme est développé avec la phase suivante : butanol - acide formique - eau (100/24/12). La lactone et l'acide isocitrique ont des Rf très différents.

2. *Composés phosphorylés et PO_4H_3 .*

Déphosphorylation des composés phosphorylés. — Les composés phosphorylés ne sont étudiés que lorsqu'ils sont radioactifs. Après isolement par chromatographie sur papier, ils sont déphosphorylés. La déphosphorylation est faite suivant la technique de BENSON (1955) après élution des taches, ou directement sur le chromatogramme en l'aspergeant avec une solution de polidase-S (3) (mélange de phosphatases). L'identité du fragment organique, ose ou acide, est alors vérifiée par cochromatographie avec des substances témoins.

Caractérisation de l'ion phosphorique. — Le chromatogramme est aspergé avec une solution de molybdate d'ammonium dans l'acide perchlorique, puis exposé aux vapeurs d' H_2S . L'ion phosphorique donne une coloration bleue (HANES et coll., 1949).

(1) Un échantillon d'acide shikimique m'a été fourni par M. ULRICH.

(2) Les acides aconitique et isocitrique témoins ont été synthétisés au laboratoire par Mme JOLCHINE.

(3) Polidase - S., SCHWARTZ, Laboratories Inc.

2) Dosage des acides organiques.

a) *Dosage de l'acidité libre et de l'acidité totale.* — La mesure de l'acidité libre des extraits de feuilles est faite avec de la soude 0,1 N. Le virage d'un indicateur coloré ne peut être saisi nettement, les pigments anthocyaniques de l'extrait végétal virant eux-mêmes au cours du dosage. L'alcalinisation est donc suivie au pH mètre jusqu'à pH 8,2, pH de virage du rouge de phénol utilisé dans les dosages ultérieurs.

L'acidité totale est déterminée, sur l'extrait de feuilles, après le premier passage sur la Duolite C₂₀ qui fixe les cations, K⁺, Na⁺, etc., libérant tous les ions acides salifiés. La différence entre l'acidité totale et l'acidité libre correspond à la quantité d'ions acides salifiés.

Les résultats sont exprimés en milliéquivalents par gramme de substance sèche.

b) *Dosage des acides organiques après séparation par chromatographie sur colonne de silice.* — Les acides organiques de la fraction acide (solution c) sont dosés individuellement après séparation sur colonne de silice selon les techniques mises au point par JOLCHINE (1956).

Huit grammes de silice (1) sont intimement mélangés à 5,5 cm³ de SO₄H₂ 0,5 N et entraînés avec du chloroforme dans une colonne à chromatographie. Un à 1,5 milliéquivalent d'acides organiques est incorporé à 1 g de silice, et transféré sur la colonne.

L'élution est faite avec des mélanges de chloroforme et de butanol, saturés d'eau à 2,5% de SO₄H₂. L'effluent est recueilli par fractions de 3 cm³ au moyen d'un collecteur automatique de fractions (2).

Les fractions sont dosées avec de la soude 0,01 N en présence de rouge de phénol, et d'une solution à 1 p. 100 de laurylsulfonate de soude, qui facilite le mélange des différentes phases.

L'identité des acides est vérifiée par chromatographie sur papier des fractions correspondantes.

3) Techniques particulières à l'analyse des composés radioactifs.

Autoradiographie et mesures de radioactivité. — Les chromatogrammes de composés radioactifs sont mis en contact avec un film radiographique Kodirex (FINK et coll., 1948). Le développement du film permet de localiser, sur le chromatogramme, les composés radioactifs renfermant du ¹⁴C. Ces composés sont élués par l'eau, et la radioactivité de l'éluat est mesurée au compteur Geiger-

(1) Acide silicique, MALLINCKRODT, 100 mesh.

(2) Collecteur Eral.

Müller à fenêtre de mica mince de $1,9 \text{ mg/cm}^2$. La radioactivité est exprimée en nombre de coups par minute.

C. ANALYSE DE LA FRACTION INSOLUBLE.

1. *Protéines.*

Les protéines sont hydrolysées par HCl 6 N, à 100°C pendant 24 h selon BOULANGER et coll. (1950). Les acides aminés de l'hydrolysate sont ensuite séparés par chromatographie sur papier.

2. *Oxalates insolubles.*

On emploie la méthode de BERTHELOT et coll. (1885). Le résidu insoluble est traité deux fois par HCl à 4% au bain-marie bouillant afin de solubiliser les oxalates insolubles. Ces deux extraits sont réunis et purifiés par précipitations en milieu ammoniacal et redissolutions en milieu acide. Dans la solution finale, l'oxalate est dosé par manganimétrie.

D. PRÉCISION GÉNÉRALE DES MESURES.

Pertes de radioactivité faites pendant la chromatographie sur papier :

Une étude critique sur les pertes de substances au cours de la chromatographie sur papier a été faite par CHAMPIGNY (1960) à propos du dosage colorimétrique des acides aminés après chromatographie. Au cours du déplacement, la perte varie de 0 à 15%. Ces résultats sont valables lorsque l'on considère la radioactivité des métabolites chromatographiés. C'est ce qui explique la différence que l'on pourra observer entre le total trouvé après séparation sur résines et le total trouvé après chromatographie sur papier. Aux pertes dues à la chromatographie, il faut ajouter les pertes dues aux manipulations ultérieures : découpages, éluions. Afin d'obtenir des valeurs comparables, les chromatogrammes sont faits dans des conditions identiques : mêmes quantités de substances sur la tache initiale, mêmes distances parcourues par les solvants. Les résultats obtenus après chromatographie sur papier sont toujours recoupsés par les premiers résultats, obtenus après séparation sur résines.

Un calcul statistique sur des mesures répétées a été fait au laboratoire par HAUSFATER (1), afin d'évaluer l'efficacité des mesures de radioactivité. Ces mesures sont constantes à 10% près.

Le choix des limbes est fait de telle sorte que les lots soient

(1) Communication personnelle.

homogènes. Cette précaution étant prise, les erreurs dues à l'échantillonnage sont certainement inférieures à 10% (MOYSE, 1950).

Si l'on tient compte de la valeur moyenne de l'échantillonnage des feuilles et de la valeur moyenne des mesures de radioactivité, on constate que l'erreur totale dont peuvent être entachés les résultats est de l'ordre de $\pm 20\%$.

EXPÉRIENCES ET RÉSULTATS

A. — LES PRINCIPAUX CONSTITUANTS ORGANIQUES SOLUBLES DES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L.

LES ACIDES ORGANIQUES.

Les feuilles de *Pelargonium peltatum* L. sont très riches en acides organiques. L'acidité des extraits peut atteindre 5 milliéquivalents par g de substance sèche. Le pH des extraits est de 3,20 en moyenne. Les acides salifiés représentent environ 10 à 20% des ions acides totaux.

Les différents acides séparés et identifiés par les techniques citées sont : les acides malique, tartrique, citrique, succinique, fumarique, aconitique, shikimique, pyrrolidone-carboxylique et oxalique. Leur dosage après séparation sur colonne de silice, donne la courbe représentée sur la fig. 1.

L'acide malique et l'acide tartrique sont les constituants majeurs. La teneur en *acide malique* est variable ; elle peut atteindre 3 milliéquivalents par g de substance sèche ; elle est aussi élevée que la teneur en acide malique du *Bryophyllum Daigremontianum* (tableau I D).

L'acide tartrique. Dès les premiers essais j'ai mis en évidence la présence d'acide tartrique dans les feuilles de *Pelargonium zonale* et dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* (GYR, 1956) où sa teneur est à peu près constante et voisine de 0,80 m. éq. par g de substance sèche. Presque simultanément RANJAN et coll. (1955) identifiaient l'acide tartrique dans les feuilles de *Pelargonium* sp. La présence d'acide tartrique a été reconnue dans plusieurs espèces, surtout dans les fruits, par plusieurs auteurs : KLEIN (1932), THIMANN et coll. (1950), VICKERY et coll. (1954), KARRER (1958). MONTANT (1959) l'a identifié chez *Euphorbia cyparissias*. Récemment STAFFORD (1959) a recherché l'acide tartrique dans les feuilles de 49 espèces d'Angiospermes. Neuf espèces en renferment des quantités importantes ; ce sont *Vitis vinifera*, *V. labruscana*, *V. californica*, *Parthenocissus tricuspidata*, *P. quinquefolia*, *Pelargonium hortorum*, *Bauhinia malabarica*, *Phaseolus vulgaris* et *Coleus blumei*. Vingt-deux espèces, dont *Erodium cicutarium*

et *Geranium viscosissimum*, n'en renferment que des traces. Dans les genres *Vitis*, *Parthenocissus* et *Pelargonium* il s'agit d'acide tartrique droit (STAFFORD, 1959). L'acide tartrique gauche a été identifié dans *Bauhinia reticulata* par RABATE et coll. (1938). Quant à l'acide mésotartrique, qui n'a pas d'activité optique, aucune recherche n'a été faite à son sujet. Il est possible cependant

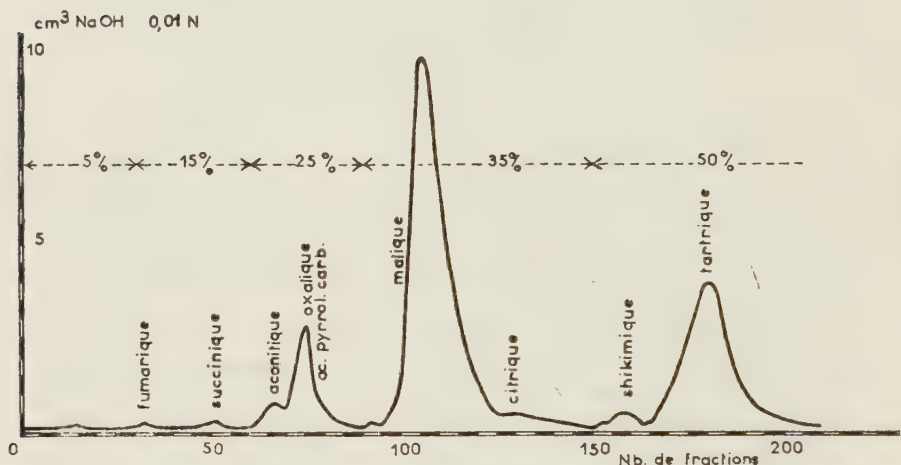


Fig. 1. — Séparation sur gel de silice des acides organiques des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. L'élution est faite avec du butanol en concentration croissante (5 %, 15 %, etc.) dans le mélange éluant (chloroforme et butanol saturés d'eau).

qu'il existe dans les plantes supérieures. Une déshydrogénase capable de l'oxyder a été mise en évidence dans des extraits de Pois, de Haricot, de Blé et de Vigne par STAFFORD (1957) et STAFFORD et coll. (1958).

Parmi les *acides du cycle tricarboxylique*, les acides citrique, aconitique, succinique et fumarique ne sont présents qu'en faibles quantités. L'acide isocitrique n'a pu être décelé. On ne connaît que quelques cas d'accumulation de cet acide, dans les feuilles de Crassulacées (NORDAL, 1942 ; PUCHER et coll., 1942) et dans les feuilles et les fruits de *Rubus* (NELSON, 1925).

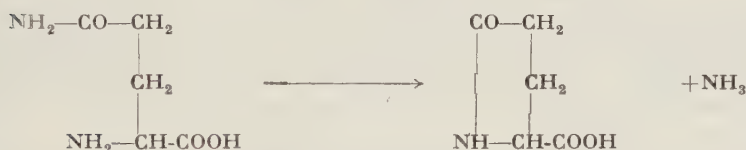
L'acide shikimique a été identifié dans de nombreuses espèces de Gymnospermes par HATTORI et coll. (1954), chez *Lolium perenne* par RICHARDSON et coll. (1955), dans les feuilles d'*Eucalyptus sieberiana* par HILLIS (1959), chez quelques Gymnospermes et quelques Anacardiées par PLOUVIER (1959, 1960). Il se forme

par condensation d'une molécule d'érythrose-4-phosphate et d'une molécule d'acide phosphoénolpyruvique (SRINIVASAN et coll., 1955). C'est un des précurseurs de la tyrosine, de la phénylalanine (GILVARG et coll., 1952) et des noyaux aromatiques de la lignine (EBERHARDT et coll., 1956).

L'acide oxalique : dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* L., comme dans de nombreuses espèces végétales (THIMANN et coll., 1950 ; POBEGUIN, 1943) il existe surtout à l'état d'oxalates insolubles. La teneur moyenne est de 1,40 milliéquivalents par g de substance sèche.

L'acide pyrrolidone-carboxylique. D'après KATZ et coll. (1954), la présence de l'acide pyrrolidone-carboxylique serait due à la transformation de la glutamine au cours des manipulations.

On prépare facilement cet acide en chauffant pendant 1 h à 100° C une solution de glutamine, en présence d'un tampon phosphate de pH 6,5 (WAELESCH, 1952). Par cyclisation, la glutamine donne l'acide pyrrolidone-carboxylique :



Il est possible qu'une partie de l'acide pyrrolidone-carboxylique des extraits de *Pelargonium peltatum* L. provienne de la transformation de la glutamine présente dans les feuilles au cours des extractions pendant lesquelles les extraits (pH 3,2) sont portés aux environs de 65° C. Afin de vérifier cette hypothèse, un mélange d'acide malique, d'acide tartrique et de glutamine, amené à pH 3 par addition de soude, est traité comme un extrait ordinaire dans l'alcool méthylique bouillant. Après distillation de l'alcool, le mélange est chromatographié : on trouve de l'acide pyrrolidone-carboxylique sur le chromatogramme. Cet acide est séparé sur silice et dosé et l'on constate que 50 % de la glutamine sont transformés en acide pyrrolidone-carboxylique. Dans plusieurs expériences faites avec du radiocarbène, la radioactivité de l'acide pyrrolidone-carboxylique est 3 fois plus élevée que celle de la glutamine. Dans ce cas, 75 % de la glutamine ont dû être transformés.

LES GLUCIDES LIBRES.

Outre le glucose, le saccharose et le fructose, les feuilles contiennent un heptulose différent du sédoheptulose qui s'accumule chez

les Crassulacées (LA FORGE et coll., 1917). Cet heptulose inconnu, donne une coloration bleue avec l'orcinol trichloracétique. Il a le même Rf que le glucose, aussi bien dans le phénol saturé d'eau que dans le mélange butanol-acide acétique-eau. On le trouve aussi dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* (GARNIER-DARDART, 1959). Il s'agit vraisemblablement de mannoheptulose ou de glucoheptulose.

Les acides aminés les plus importants sont : l' α -alanine, les acides aspartique et glutamique, la thréonine, la sérine, le glyco-collé, la glutamine, l'acide γ -aminobutyrique, la valine, les leucines.

B. — LE MÉTABOLISME DE L'ACIDE MALIQUE DANS LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L. ANALOGIES AVEC LE MÉTABOLISME DES CRASSULACÉES

A la suite d'essais préliminaires (1955), j'ai constaté, dans les limbes de *Pelargonium peltatum* L., une variation d'acidité faible au cours de la journée. Simultanément, RANJAN et coll. (1955), en employant la chromatographie sur papier, ont observé une diminution des teneurs en acides malique et citrique dans les feuilles de *Pelargonium* sp.

Afin d'amplifier ce phénomène, j'ai employé, d'une part les éclairagements prolongés, d'autre part les fortes tensions partielles de CO_2 en opérant à différentes températures. En effet, dans les feuilles de Crassulacées, la chute d'acidité peut se poursuivre plus longtemps qu'une journée ordinaire. Dans les feuilles de *Bryophyllum calycinum*, elle se stabilise après 20 h d'éclairement (VICKERY, 1953). On sait, d'autre part, que l'accumulation d'acides à l'obscurité est favorisée par les basses températures (WOLF, 1931, 1938 ; BONNER et coll., 1948 ; SOMERS, 1951) et par les fortes tensions de CO_2 (BONNER et coll., 1948 ; THOMAS et coll., 1949, 1954).

EXPÉRIENCE I A (12 juillet 1955).

Deux lots de 24 limbes sont prélevés le matin (lot I) et le soir (lot II) après un éclairage naturel de 8 heures. Ces deux lots témoins sont fixés aussitôt dans l'alcool bouillant.

Puis cinq lots, comprenant chacun 25 à 30 limbes, sont prélevés, à la fin de l'après-midi, après avoir subi un éclairage naturel de 8 heures. Ils sont ensuite soumis à un éclairage d'appoint de 5000 lux, fourni par des lampes Mazda de 60 watts. Les feuilles sont placées dans une enceinte balayée par un courant d'air humide dépourvu de CO_2 par barbotage dans une solution de potasse.

L'enceinte est protégée contre un échauffement excessif par une circulation externe d'eau froide. La température est de 27° C.

Un lot est éclairé artificiellement pendant 17 h (lot III).

Un autre lot est éclairé artificiellement pendant 23 h (lot IV).

Enfin, trois lots sont éclairés artificiellement pendant 17 h, puis sont mis à l'obscurité, à l'air pendant 7 h et respectivement à 5° C (lot III bis), à 10° C (lot III ter), à 26° C (lot III quarto).

TABLEAU I A

Exp. I A. — Acidités des feuilles de Pelargonium peltatum L., exprimées en milliéquivalents par g de substance sèche, et teneurs en eau en % du poids de substance sèche (P.S.).

	Acidité		Acide			H ² O en % du P S
	Libre	Totale	Mali- que	Tar- trique	Oxal. + aconit. + pyrrol- carb.	
I Témoin matin	4,30	4,80	3	0,70	0,15	1060
II Illumination = 8 h....	3	3,70				900
III Illumination = 8 h + 17 h	2,50	3,30	1,50	1	0,20	860
IV Illumination = 8 h + 23 h	1,80	2,50	0,80	0,70	0,20	740
III bis a) illumination = 8 h + 17 h	2,80	3,30				790
b) obscurité - Air - 7 h à 5° C						
III ter a) illumination = 8 h + 17 h	2,70	3,40				870
b) obscurité - Air - 7 h à 10° C						
III quarto a) illumination = 8 h + 17 h	3,20	4				990
b) obscurité - Air - 7 h à 26° C						

Les résultats présentés dans le Tableau I A montrent que l'acidité libre et l'acidité totale diminuent à la lumière. La diminution est d'autant plus importante que l'éclairement est plus

prolongé. Elle peut être rapportée en majeure partie à la disparition d'une fraction importante de l'acide malique. La teneur en acide tartrique reste constante.

A l'obscurité, en présence d'air, la réacidification est faible. A 5° C elle est nulle. Elle devient plus nette lorsque la température s'élève.

TABLEAU I B

Exp. I B. — Acidités des feuilles de Pelargonium peltatum L., exprimées en milliéquivalents par g de substance sèche, et teneurs en eau en % du poids de substance sèche.

(Durée de la pré-illumination = 24 h). Tension partielle initiale de CO₂ = 5 %.

	Acidité		Aci- des sali- fiés	Acide			H ₂ O en % du P S
	Libre	Totale		mali- que	tar- trique	Oxal. + aconit. + pyrrol. carb.	
I Témoin pré-illu- miné (air) ...	2,70	3,40	0,70	1,10	0,64	0,13	1080
II Lumière, 25° C, 7 h (air + 5 % CO ₂)	4,10	4,80	0,70	2,10	0,70	0,12	1190
III Lumière, 25° C, 23 h (air + 5 % CO ₂)	4,10	4,70	0,60	2,90	1	0,30	1030
IV Obscurité, 7 h, 10° C, (air + 5 % CO ₂).....	3,20	3,80	0,60	2	0,70	0,20	1130
V Obscurité, 7 h, 25° C, (air + 5 % CO ₂).....	3,60	4,20	0,60	2	0,66	0,20	1130

EXPÉRIENCE I B (19 juillet 1955).

Cinq lots de 25 limbes chacun sont pré-illuminés pendant 24 h, avec 5000 lux, en absence de CO₂. Un lot témoin est fixé (lot I). Deux lots sont mis en présence d'air + 5 % de CO₂, à la lumière (5000 lux), à 25° C, pendant 7 h (lot II) et pendant 23 h (lot III). Deux lots sont mis en présence d'air + 5 % de CO₂ à l'obscurité pendant 7 h, à 10° C (lot IV) et à 25° C (lot V).

Le Tableau I B indique les principaux résultats obtenus. A la lumière comme à l'obscurité, en présence de 5% de CO_2 , on constate une augmentation de la teneur des limbes en acides organiques, intéressant essentiellement l'acide malique. La teneur en acide tartrique est moins affectée. A l'obscurité, l'augmentation d'acidité est plus grande à 25° C qu'à 10° C.

EXPÉRIENCE I C (11 mars 1958).

Un lot témoin de six limbes est prélevé le matin et fixé aussitôt.

Un deuxième lot de six limbes est éclairé avec 3000 lux pendant 24 h, à 17° C dans une enceinte close, en présence d'air.

Le troisième lot de six limbes est éclairé dans les mêmes conditions, en présence d'air + 5% de CO_2 .

TABLEAU I C

Exp. I C. — Acidités des feuilles de Pelargonium peltatum L., exprimées en milliéquivalents par g de substance sèche.

Teneur en eau en % du poids de substance sèche : 900.

Eclairement : = 3000 lux ; T = 17° C ; Durée de l'expérience : 24 h.

	Acidité		Acide	
	libre	totale	malique	tartrique
Témoin matin	3,90	4,80		
Air	2,80	3,30	1,67	0,89
Air-5% CO_2	3,78	4,40	2,80	0,87

Les résultats sont indiqués dans le Tableau I C. Dans l'air, l'acidité libre et l'acidité totale diminuent ; la teneur en acide malique est faible.

En présence de 5% de CO_2 , l'acidité libre et l'acidité totale restent constantes, la teneur en acide malique est élevée alors que la teneur en acide tartrique est semblable à celle des limbes placés dans l'air.

Des essais ont été faits (4 juillet 1956) afin d'étudier le rôle de la tension d' O_2 dans la désacidification à la lumière. Des feuilles riches en acide ont été exposées à la lumière en présence d' N_2 pur ou d' O_2 pur, avec ou sans CO_2 . Les variations d'acidité mesurées n'ont pas été assez nettes pour mettre en évidence le rôle de l'oxygène.

DISCUSSION.

1) Désacidification à la lumière.

Exp. I A. — Lorsque les limbes de *Pelargonium peltatum*, riches en acides organiques, sont soumis à un éclaircissement prolongé, l'acide malique est oxydé et son carbone est utilisé dans les réactions photosynthétiques. Bien que la teneur en acide malique des limbes de *Pelargonium* soit aussi élevée que celle des limbes de *Bryophyllum*, la chute d'acidité à la lumière est beaucoup plus faible que celle que l'on constate chez les Crassulacées (cf. Tableau I D).

TABLEAU I D

Acidités des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger exprimées en milliéquivalents par g de substance sèche (1).

	Acidité		Acide
	Libre	Totale	Malique
Témoin matin	3,06	4,12	2,88
Témoin soir	0,42	1,34	0,94

VARNER et coll. (1950) d'une part, KUNITAKE et coll. (1958) d'autre part, ont mis en évidence la consommation du carbone de l'acide malique dans la photosynthèse. Des feuilles de *Bryophyllum calycinum* fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à l'obscurité et s'enrichissent en acide malique radioactif. Puis elles sont exposées à la lumière. Le radio-carbone de l'acide malique est alors partiellement intégré dans les glucides.

De même lorsque des feuilles de *Bryophyllum calycinum* sont alimentées en acide pyruvique 2- ^{14}C ou en acide malique 2- ^{14}C , à la lumière, les glucides deviennent radioactifs (HAIDRI, 1955).

Le mécanisme de la conversion de l'acide malique en glucides n'est pas exactement connu. Le premier stade comprend probablement la décarboxylation de l'acide malique en acide pyruvique. Cet acide pyruvique peut être, soit incorporé dans les glucides par la voie inverse de la glycolyse (HAIDRI, 1955), soit complètement oxydé et le CO_2 dégagé serait alors repris dans la photosynthèse (MOYSE, 1959).

Exp. 1 C. — Lorsque les limbes riches en acides organiques sont mis à la lumière en présence de 5% de CO_2 il y a suffisamment

(1) MOYSE et coll., 1956.

de CO_2 pour saturer le mécanisme photosynthétique et la teneur en acide malique reste alors constante. THOMAS et coll. (1949) ont obtenu des résultats comparables avec *Bryophyllum calycinum*, ainsi que MOYSE et coll. (1956) avec *Bryophyllum Daigremontianum*.

2) Acidification à la lumière et à l'obscurité.

En présence de 5% de CO_2 , les feuilles de *Pelargonium peltatum* L., pauvres en acides et riches en glucides (exp. I B) sont le siège d'une β -carboxylation active à l'obscurité et à la lumière. L'accumulation d'acide qui en résulte n'est pas favorisée par l'abaissement de la température, contrairement à ce qui se produit chez les Crassulacées. Elle ne peut être facilement décelée aux basses tensions de CO_2 (air ; exp. I A), elle se produit pourtant et on peut le vérifier avec du $^{14}\text{CO}_2$. C'est ce qui fait l'objet de l'expérience suivante.

C. — LA β -CARBOXYLATION DANS LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L. (GYR, 1958)

EXPÉRIENCE II (21 juin 1957).

Deux lots de 3 limbes chacun sont pré-illuminés pendant 20 heures selon la technique déjà décrite (exp. I A). Ces limbes qui renferment 4,40 m. éq. d'acide par g de substance sèche, d'après les dosages faits sur un lot témoin, sont alors mis pendant 6 mn dans de l'air renfermant du $^{14}\text{CO}_2$. Un lot est placé à 20 000 lux (lot I), l'autre à l'obscurité (lot II). Deux lots de limbes non pré-illuminés, plus riches en acides (5,30 m. éq. par g de substance sèche), sont traités pareillement, l'un à la lumière (lot III), l'autre à l'obscurité (lot IV). Dans tous les cas, la tension partielle du CO_2 est de 0,032%, l'activité est de 150 μC et la température de 24° C.

1) La fixation du $^{14}\text{CO}_2$ et la radioactivité des différents groupes de substances (Tableau II-1).

A la lumière, une très large fraction du $^{14}\text{CO}_2$ s'engage dans les réactions photosynthétiques, l'incorporation ayant lieu dans les composés phosphorylés et les glucides. La pré-illumination n'affecte guère cette fixation, il y a toujours une très forte accumulation de composés phosphorylés. Cependant, une partie importante du $^{14}\text{CO}_2$ est intégrée dans les acides organiques et dans les acides aminés. Cette partie est plus élevée lorsque les feuilles ont été pré-illuminées.

A l'obscurité, le radiocarbone est essentiellement présent dans les acides organiques et les acides aminés. La quantité totale de

$^{14}\text{CO}_2$ fixée à l'obscurité est 3 fois plus forte lorsque les feuilles ont été pré-illuminées.

A la lumière, la radioactivité présente dans les substances insolubles ne dépasse pas le 1/4 de la radioactivité totale fixée. A l'obscurité, elle est négligeable.

TABLEAU II-1

Exp. II. — Radioactivités des différentes fractions en milliers de coups par mn et par g de substance sèche. Les pourcentages ne concernent que l'extrait soluble. Feuilles pré-illuminées : P F moyen = 10 g 15, P S moyen = 1 g, H_2O en % du P S = 900.

Feuilles non pré-illuminées : P F moyen = 12 g 67, P S moyen = 0 g 88, H_2O en % du P S = 1330.

(CO_2) = 0,032 %, Act. = 150 μC , T = 24° C, Lum = 20 000 lux.

		Feuilles pré-illuminées				Feuilles non pré-illuminées			
		6 mn Lum. I	6 mn Obs. II			6 mn Lum. III	6 mn Obs. IV		
Radioactivité totale (somme)		1360	189,6			1227	61,5		
Fraction insoluble		129	0,4			364	0,8		
Extrait soluble (somme)		1231	189,2			863	60,7		
Répartition dans l'extrait soluble	(1) Composés-P	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%
		291	23,60	18	9,60	316	36,40	0,9	1,50
	Ac. organiques ..	186	15,10	108	56,90	31	3,60	44	72,20
	Ac. aminés	467	37,90	63	33,30	287	33	15	25
	Glucides ..	287	23,30	0,2	0,20	229	26	0,8	1,30

2) La radioactivité des différents métabolites et le mécanisme de leur synthèse (Tableau II-2 ; fig. 2).

a) La β -carboxylation et la photosynthèse. — A l'obscurité, la plus grande partie du radiocarbonate se retrouve dans l'acide malique (Pl. I-1) et dans l'acide aspartique. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par de nombreux chercheurs, en particulier, SALTMAN et coll. (1956) avec des feuilles de *Bryophyllum calycinum* exposées 6 secondes au $^{14}\text{CO}_2$. On peut admettre qu'il

(1) acides phosphorylés + oses phosphorylés.

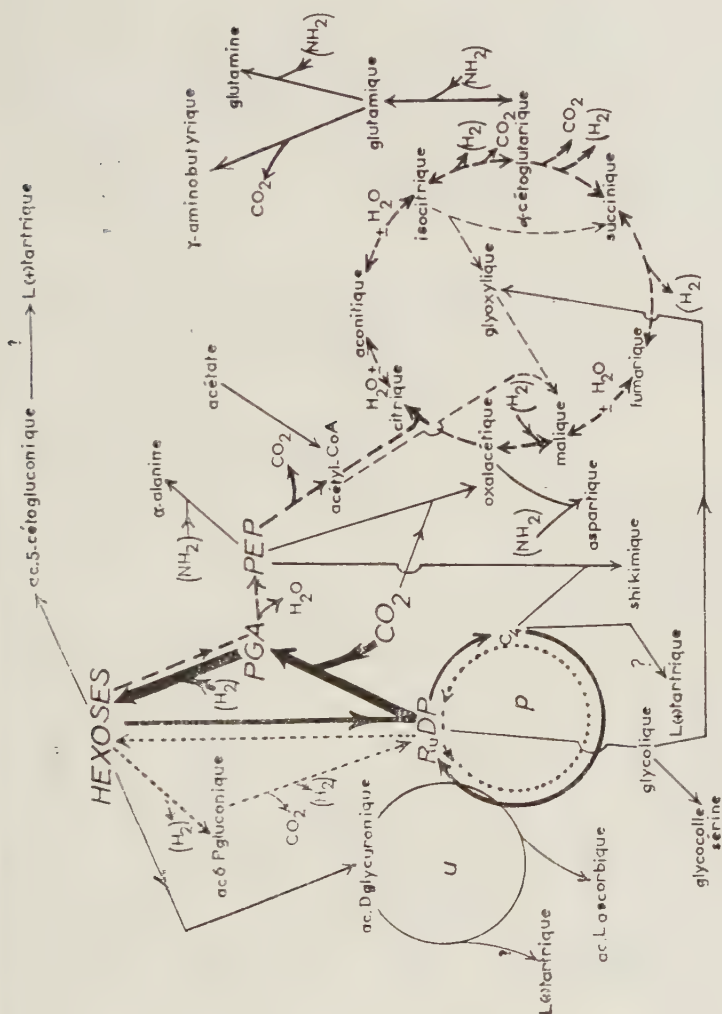


Fig. 2. — Schéma des réactions du métabolisme intermédiaire des acides organiques et de quelques-uns de leurs dérivés.

--- Voie d'EMBDEN-MEYERHOF, et cycle des acides tricarboxyliques.

--- Cycle glyoxylique.

Photosynthèse

... Voie des phosphopentoses.

P = Cycle des phosphopentoses, commun à la photosynthèse et aux oxydations des glucides par la voie des phosphopentoses.

U = Cycle des acides uroniques.

se produit une β -carboxylation de l'acide pyruvique ou du P E P et que l'acide oxalacétique formé est à l'origine de l'acide aspartique et de l'acide malique. Cette β -carboxylation à l'obscurité est plus intense lorsque les feuilles sont pré-illuminées. Dans les feuilles de *Pelargonium peltatum*, l'amination de l'acide oxalacétique en acide aspartique est importante. Elle est responsable pour une bonne part de ce qu'à l'obscurité les acides aminés possèdent de 25 à 33,30% de la radioactivité totale fixée. Dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum*, les acides aminés ne compren-

TABLEAU II-2

Exp. II. — Radioactivités des principaux métabolites (1) de l'extrait soluble, en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

(CO₂) = 0,032% Act. = 150 μ C T = 24° C Lum. = 20 000 lux

	Feuilles pré-illuminées		Feuilles non pré-illuminées	
	6 mn Lum. I	6 mn Obs. II	6 mn Lum. III	6 mn Obs. IV
Ac. malique	120	62	24	25
Ac. citrique.	7	6	3	3
Ac. fumarique . . .	6,5	3	2	2
P E P (2)	35	12	0	0,6
P G A	40	0	56	0
Glucose - P (3) . . .	38	0	40	0
Oses-P (4)	206	0	189	0
Saccharose	144	0	155	0
Glucose	22	0	31	0
Fructose	14	0	18	0
Ac. aspartique . . .	87	48	15	8
Ac. glutamique . . .	8	6	7	2
Ac. γ -aminobutyrique	6,5	1	4	0
α -alanine	58	4	90	3
Sérine + glycocolle	144	0	115	0

(1) Parmi les acides aminés et les glucides, seuls les plus importants ont été cités.

(2) Il s'agit probablement de P E P.

(3) Il s'agit probablement de glucose, provenant de la déphosphorylation d'un composé inconnu, au cours de la chromatographie.

(4) Oses phosphorylés.

nent que 4,3% de la radioactivité dont la presque totalité se retrouve dans l'acide malique (CHAMPIGNY, 1956).

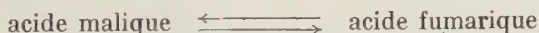
L' α -alanine est légèrement marquée. Il se forme donc de l'acide pyruvique ou phosphoenolpyruvique radioactif et l'acide malique est probablement marqué sur les deux carboxyles. La radioactivité de l'acide pyruvique pourrait être attribuée à l'action de la fumarase dont l'intervention est très rapide dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* (cf. paragr. b). Cette action pourrait, en effet, conduire après une réhydratation de l'acide fumarique, à la formation d'acide malique $1-4^{14}\text{C}$, qui, par décarboxylation, donnerait naissance à de l'acide pyruvique radioactif. Mais il est plus probable que cette radioactivité provienne d'une carboxylation du RuDP (CHAMPIGNY, 1960).

À la lumière, la plus grande partie du radiocarbone est intégrée dans les métabolites d'origine photosynthétique : oses phosphorylés (glucose et fructose, surtout), PGA, saccharose, α -alanine, sérine et glyco-colle (Pl. II-3 ; Pl. III-5).

Lorsque les feuilles ne sont pas pré-illuminées, l'acide malique n'est pas plus radioactif à la lumière qu'à l'obscurité. Au contraire, lorsque les feuilles sont pré-illuminées, l'acide malique est plus radioactif à la lumière qu'à l'obscurité. Malgré la faible teneur en CO_2 , la β -carboxylation a donc lieu très activement à la lumière. Dans des feuilles de *Pelargonium peltatum* pré-illuminées pendant 20 heures, elle est aussi intense que dans des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* pré-illuminées 6 heures (MOYSE et coll., 1957).

L'intensité élevée de la β -carboxylation à la lumière dans les feuilles pré-illuminées peut s'expliquer si la carboxylation du RuDP intervient dans la genèse de l'acide malique. À la lumière, en effet, la régénération du RuDP est assurée par le cycle photosynthétique. Dans les feuilles non pré-illuminées, pauvres en glucides, les molécules de PGA, issues de la carboxylation du RuDP seraient entraînées essentiellement dans la synthèse des glucides. Dans les feuilles pré-illuminées, saturées en glucides, il doit rester du PGA disponible pour la synthèse de l'acide malique. La β -carboxylation se fait alors activement en même temps que la photosynthèse (CHAMPIGNY et coll., 1957 ; DARDART, 1958).

b) *Le cycle des acides tricarboxyliques.* — L'acide fumarique est marqué dans tous les cas alors que l'acide succinique ne l'est pas. L'équilibre :



catalysé par la fumarase s'établit donc rapidement. Par contre, en 6 mn, la réaction :



ne se révèle pas.

Il faut remarquer que l'oxydation de l'acide malique dans le cycle tricarboxylique ne peut donner de l'acide succinique radioactif quelle que soit la période employée. En effet, les deux décarboxylations qui ont lieu, celle de l'acide isocitrique et celle de l'acide α -cétooglutarique, concernent les deux carboxyles de l'acide malique, c'est-à-dire les seuls atomes de carbone qui soient radioactifs, dans le cas présent. De même, lorsque des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* fixent du $^{14}\text{CO}_2$ pendant une heure, à l'obscurité, l'acide succinique n'est pas radioactif (CHAMPIGNY et coll., 1957). Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus dans l'expérience IV.

A l'obscurité, les acides citrique et glutamique sont peu radioactifs. La radioactivité de l'acide aconitique, très peu abondant, n'est pas décelable. Le cycle des acides tricarboxyliques fonctionne lentement par rapport à la vitesse de la β -carboxylation. Ces résultats sont semblables à ceux obtenus par MOYSE et coll. (1957) avec des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum*.

A la lumière, la radioactivité de l'acide glutamique augmente très peu, contrairement à ce qui se produit dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* (CHAMPIGNY, 1960). Le cycle des acides tricarboxyliques ne fonctionne donc pas plus rapidement qu'à l'obscurité dans les feuilles de *Pelargonium peltatum*.

A la lumière, les oxydations y sont plus lentes que dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* ainsi qu'il a été déjà constaté dans l'expérience I A à propos de l'oxydation de l'acide malique.

c) *L'acide tartrique*. — Cet acide n'est marqué dans aucun cas. RANSON (1954) n'a trouvé aucune radioactivité dans l'acide tartrique du Raisin après 14 heures d'exposition au $^{14}\text{CO}_2$ à l'obscurité. Sa genèse est donc beaucoup plus lente que celle des autres acides organiques. De même, il n'est pas rapidement métabolisé ainsi que l'ont constaté VICKERY et coll. (1954) et VICKERY (1957) dans des feuilles de Tabac cultivées sur des solutions de tartrate. L'acide tartrique absorbé par les feuilles s'accumule sans être utilisé.

CONCLUSIONS.

La fixation du CO_2 dans l'acide malique, décelée dans l'expérience I B en présence d'une forte tension de CO_2 , a été confirmée par l'emploi du $^{14}\text{CO}_2$.

A la lumière comme à l'obscurité, les feuilles de *Pelargonium*

peltatum sont le siège d'une β -carboxylation qui aboutit à une synthèse rapide d'acide malique et d'acide aspartique.

A la lumière, la β -carboxylation se fait compétitivement avec la photosynthèse. Assez faible lorsque les feuilles n'ont pas été pré-illuminées, elle devient très intense lorsque les feuilles ont été enrichies en glucides et appauvries en acides par une pré-illumination.

Le mécanisme de cette β -carboxylation est probablement identique à celui qui intervient dans les feuilles de Crassulacées.

Les réactions du cycle des acides tricarboxyliques sont lentes par rapport à la vitesse de la β -carboxylation.

Diverses réactions secondaires donnent naissance à quelques acides aminés : α -alanine, acide γ -aminobutyrique. Elles sont toujours plus importantes à la lumière qu'à l'obscurité.

L'acide tartrique, cependant très abondant, n'est pas rapidement synthétisé.

D. — La β -CARBOXYLATION ET LA PHOTOSYNTHESE DANS LES FEUILLES DE *PELARGONIUM PELTATUM* L. EN FONCTION DE LA TENSION PARTIELLE D'OXYGÈNE

EXPÉRIENCE III (2 avril 1958).

Des feuilles de *Pelargonium peltatum* sont éclairées en lumière blanche (2500 lux) pendant 15 heures, soit dans une atmosphère d'O₂ pur, soit dans une atmosphère d'N₂+2% d'O₂.

Les feuilles pré-illuminées en présence d'N₂+2% d'O₂ fixent ensuite du ¹⁴CO₂ en présence d'N₂ renfermant seulement des traces d'O₂ (O₂<0,2%) pendant 6 mn, à la lumière (lot I) ou à l'obscurité (lot II).

Les feuilles pré-illuminées en présence d'O₂ pur fixent du ¹⁴CO₂ en présence d'O₂ également pendant 6 mn, à la lumière (lot III) ou à l'obscurité (lot IV).

Chaque lot comprend 3 feuilles. Dans tous les cas, la tension partielle du CO₂ est de 0,03%, l'activité étant de 145 μ C. Pendant la fixation du ¹⁴CO₂, l'éclairement est de 20 000 lux et la température de 24°C.

1) La fixation du radiocarbone dans les différents groupes de substances (Tableau III-1).

A la lumière, la fixation totale du radiocarbone est beaucoup plus forte dans N₂ que dans O₂, aussi bien dans l'extrait soluble que dans la fraction insoluble. Dans N₂, près de la moitié de la radioactivité de la fraction soluble est due aux composés phosphorylés. Les glucides et les acides aminés sont aussi très radio-

actifs. Par contre, les acides organiques ne possèdent que 7,75% de la radioactivité.

A la lumière dans O_2 , l'activité des composés phosphorylés n'est plus que de 31,4% et les acides organiques sont aussi radioactifs que les glucides et les acides aminés.

TABLEAU III-1

Exp. III. — Radioactivités des différentes fractions en milliers de coups par mn, et par g de substance sèche. Les pourcentages ne concernent que l'extrait soluble.

Feuilles pré-illuminées dans N_2 = PF moyen = 4 g 95 PS moyen = 0 g 47 H_2O en % du PS = 963.

Feuilles pré-illuminées dans O_2 = PF moyen = 5 g 35 PS moyen = 0 g 72 H_2O en % du PS = 642.

$(CO_2) = 0,03\%$ Act. = 145 μC T = 24° C Lum. = 20 000 lux

		Pré-illumination dans N ₂ +O ₂ 2%				Pré-illumination dans O ₂			
		¹⁴ CO ₂ +N ₂ ; 6 mn Lum. I		¹⁴ CO ₂ +N ₂ ; 6 mn Obs. II		¹⁴ CO ₂ +O ₂ ; 6 mn Lum. III		¹⁴ CO ₂ +O ₂ ; 6 mn Obs. IV	
Radioactivité totale (somme) ..		3653		130,5		1785		155	
Fraction insoluble		562		2		85		0	
Extrait soluble (somme)		3091		128,5		1700		155	
Répartition dans l'extrait soluble.		Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%
	Composés - P	1502	48,65	15,4	12	534	31,40	8,6	5,60
	Ac. organi- ques ..	238	7,75	58,6	45,60	374	22,10	114,4	74,40
	Ac. aminés	655	21,10	53	41,20	407	23,90	32	20
	Glucides ..	696	22,50	1,5	1,10	385	22,60	0	0

A l'obscurité, la fixation totale du $^{14}CO_2$ est un peu plus importante en présence d'une forte tension d' O_2 qu'en présence d' N_2 . En présence d' O_2 , elle se fait surtout dans les acides organiques (74,4%). Par contre, en présence d' N_2 , les acides aminés possèdent autant de radiocarbone (41,20%) que les acides organiques (45,60%).

2) La radioactivité des principaux métabolites (Tableau III-2).

a) La photosynthèse. — En présence d'une faible tension d'O₂, la photosynthèse est très intense comme en témoigne la radioactivité des oses phosphorylés, du PGA, du saccharose, de l' α -alanine, de la sérine et du glycolle. La radioactivité élevée de l'acide glycolique est probablement liée à celle de la sérine et

TABLEAU III-2

Exp. III. — Radioactivités des principaux métabolites de l'extrait soluble, en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

(CO₂) = 0,03 % Act. = 145 μ C T = 24°C Lum. = 20 000 lux.

	Pré-illumination dans N ₂ +O ₂ 2 %		Pré-illumination dans O ₂	
	¹⁴ CO ₂ +N ₂ ; 6 mn Lum. I	¹⁴ CO ₂ +N ₂ ; 6 mn Obs. II	¹⁴ CO ₂ +O ₂ ; 6 mn Lum. III	¹⁴ CO ₂ + O ₂ 6 mn Obs. IV
Ac. malique.....	173	37	216	75
Ac. citrique	6	4	1,7	3
Ac. fumarique ...	6	1,3	20	1
Ac. succinique....	4,4	+	1	0
Ac. glycolique ..	26	0	0	0
PGA + glucose—P	263	0	40	0
PEP	31	11	9,6	2,6
Oses - P	864	0	291	0
Saccharose.....	457	0	120	0
Glucose	42	0	86	0
Fructose.....	30	0	44	0
Ac. aspartique ...	157	37	18	12
Ac. glutamique ..	5	3,8	+	2
α -alanine	83	1	41	+
Sérine + glycolle	189	0	144	0

du glycolle. L'acide glycolique serait le précurseur de ces deux métabolites (TOLBERT et coll., 1953 ; LIEBERMANN et coll., 1956).

En présence d'une tension d'O₂ élevée, l'activité photosynthétique est beaucoup moins intense que dans N₂, ce qui est nette-

ment indiqué par la radioactivité plus faible des composés précédents. L'inhibition partielle de la photosynthèse par l'excès d'O₂ a été découverte par WARBURG (1920). WARBURG a trouvé que la photosynthèse décroît de 30% chez *Chlorella*, quand la concentration en O₂ croît de 0,5 à 20%. Par contre, WASSINK et coll. (1938) n'ont pas retrouvé cette différence chez *Chlorella* dans N₂ et dans l'air, mais ils l'ont constatée entre l'intensité de la photosynthèse dans l'air et dans l'O₂ pur.

MOYSE (1955, b) a suivi les échanges de gaz des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* en fonction de la tension d'O₂. Il a montré que l'émission photosynthétique d'O₂ augmente très rapidement en présence des faibles tensions d'O₂ (1,2 5% d'O₂) ; elle est maximum pour 10% d'O₂. Puis elle devient très faible quand la tension d'O₂ est très élevée. Dans les feuilles de *Pelargonium peltatum*, l'intensité de la photosynthèse dans l'oxygène pur est voisine de celle observée dans l'air (cf. exp. II), toujours plus faible que celle trouvée en présence de faibles tensions partielles d'O₂.

Le mécanisme de l'inhibition de la photosynthèse par O₂ n'est pas connu. FRANCK et coll. (1941) pensent qu'il y a photoxydation de l'enzyme de carboxylation. Pour TURNER et coll. (1958) l'oxygène oxyderait les groupes -SH de la déshydrogénase de la 3 phospho-glycéraldéhyde.

b) *La β-carboxylation.* — A la lumière, quelle que soit la tension partielle d'O₂, la β-carboxylation a lieu et l'acide oxalacétique formé donne de l'acide aspartique et de l'acide malique. En présence d'N₂, il se forme autant d'acide aspartique que d'acide malique. En présence d'O₂ l'acide oxalacétique donne surtout naissance à de l'acide malique dont une fraction importante est rapidement transformée en acide fumarique, et l'acide aspartique est beaucoup moins radioactif. Il y a compétition pour le pouvoir réducteur entre les réactions photosynthétiques et l'acide oxalacétique. En présence d'O₂ pur, quand la photosynthèse est déprimée, il reste probablement un excès de TPNH+H⁺ disponible et la réduction de l'acide oxalacétique est plus importante que son amination.

A l'obscurité, une tension partielle d'O₂ élevée agit sur la β-carboxylation en favorisant nettement la synthèse de l'acide malique. L'accélération des oxydations par l'O₂, favoriserait la formation de TPNH+H⁺. La réduction de l'acide oxalacétique couplée avec les réactions d'oxydation, l'emporterait alors sur son amination.

Les acides du cycle tricarboxylique sont peu marqués, le fonctionnement du cycle étant toujours lent. En présence d'N₂, à la lumière, l'acide succinique est radioactif. En anaérobiose, il

y a généralement accumulation d'acide succinique dans les feuilles (RANSON, 1953 ; MOYSE et coll., 1956). Pendant une courte période d'exposition au $^{14}\text{CO}_2$, l'acide tartrique ne se marque pas, quelle que soit la tension d' O_2 .

CONCLUSIONS.

A la lumière comme à l'obscurité, une tension élevée d' O_2 favorise la genèse de l'acide malique. A la lumière, la photosynthèse est déprimée, ce qui se traduit surtout par une synthèse des glucides et des composés phosphorylés plus faible que dans N_2 .

En présence d' N_2 , la photosynthèse est intense, les composés phosphorylés et les glucides libres s'accumulent. La synthèse des acides aminés est toujours importante.

E. — OXYDATIONS RESPIRATOIRES ET β -CARBOXYLATION, EN FONCTION DE LA TENSION PARTIELLE D'OXYGÈNE.

EXPÉRIENCE IV (23 juillet 1958).

Trois lots de feuilles de *Pelargonium peltatum* sont éclairés pendant 6 mn en présence de $^{14}\text{CO}_2$, dans une atmosphère d'azote renfermant 2% d'oxygène. Un lot est fixé aussitôt (lot I). Les deux autres sont mis à l'obscurité dans une atmosphère d'oxygène pur, l'un pendant 2 heures (lot II), l'autre pendant 4 heures (lot IV).

Parallèlement trois autres lots de feuilles sont éclairés pendant 6 mn en présence de $^{14}\text{CO}_2$, dans une atmosphère d' O_2 pur. Un lot est fixé aussitôt (lot IV). Les deux autres sont mis à l'obscurité dans O_2 pur pendant 2 h (lot V) et pendant 4 h (lot VI).

Chaque lot comprend trois feuilles. Dans tous les cas, l'activité du $^{14}\text{CO}_2$ est de 150 μC , la tension partielle de CO_2 est de 0,03%, l'éclairement est de 20 000 lux, la température de 24°C.

Les résultats des analyses sont présentés dans les tableaux IV-I et IV-2.

1) *Action de la tension d' O_2 pendant une période courte sur la fixation photosynthétique et sur la β -carboxylation à la lumière (lots I et IV).*

Les feuilles des lots I et IV ne sont soumises à l'action d'atmosphères pauvres ou riches en O_2 que pendant une période très courte, c'est-à-dire pendant les 6 mn au cours desquelles elles fixent le $^{14}\text{CO}_2$, à la lumière. Dans ces conditions la fixation photosynthétique est du même ordre de grandeur pour les 2 lots, comme

en témoigne la radioactivité des composés phosphorylés et des glucides (Tableau IV-1).

Par contre la β -carboxylation est plus intense lorsque l'atmosphère est riche en O_2 , l'acide malique et l'acide aspartique sont alors plus radioactifs. De même la synthèse de la sérine et du glycolle est plus importante en présence d' O_2 pur (Tableau IV-2).

TABLEAU IV-1

Exp. IV. — Radioactivités des différentes fractions en milliers de coups par mn et par g de substance sèche. Les pourcentages ne concernent que la fraction soluble.

Feuilles = PF moyen = 11,10 g PS moyen = 0,97 g H_2O en %
du PS = 1050. (CO_2) = 0,03 % Act. = 150 μC T = 24°C
Lum. = 20 000 lux.

		6 mn Lum. ; $^{14}CO_2 + (N_2 + O_2 \text{ 2\%})$						6 mn Lum; $^{14}CO_2 + O_2$ pur.					
		Témoin I		+ 2 h Obs. O_2 II		+ 4 h Obs. O_2 III		Témoin IV		+ 2 h Obs. O_2 V		+ 4 h Obs. O_2 VI	
Activité totale (somme)		539		542		535		589		406		387	
Fraction insoluble		63		51		63		21		38		51	
Extrait soluble (somme)		476		491		472		568		368		336	
Répartition dans l'extrait soluble		Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%
	Composés-P.	164	31,20	14	2,80	10	2,10	182	31,20	6	1,60	5	1,60
	Ac. organiq.	6	1,20	56	11,30	100	21,30	41	7	43	11,80	52	15,20
	Ac. aminés	181	39,60	132	26,90	119	25,10	210	36,80	122	33	76	22,70
	glucid.	125	27,60	289	58,80	244	51,40	136	23,80	197	53,50	203	60,40

2) Redistribution à l'obscurité, en présence d' O_2 pur, de la radioactivité fixée antérieurement en 6 mn à la lumière en présence d' $N_2 + 2\%$ d' O_2 (lots II et III).

Cette redistribution apparaît nettement sur les planches II et III.

Pendant la période d'obscurité, en présence d' O_2 la radio-

TABLEAU IV-2

Exp. IV. — Radioactivités des principaux métabolites de l'extrait soluble et de la fraction insoluble, en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

(CO₂) = 0,03 % Act. = 150 µC T = 24°C Lum. = 20 000 lux.

	6 mn Lum. ; ¹⁴ CO ₂ + (N ₂ + O ₂ 2 %)			6 mn Lum. ; ¹⁴ CO ₂ + O ₂		
	Témoin	+ 2 h Obs. O ₂	+ 4 h Obs. O ₂	Témoin	+ 2 h Obs. O ₂	+ 4 h Obs. O ₂
	I	II	III	IV	V	VI
Ac. maliq.	6	26	48	24	28	30
Ac. citriq.	0	5,2	16	+	9	8
Ac. fumar.	+	0	0	1	0	0
Ac. succin.	0	8,7	11	+	5	7
Ac. shikim	0	+	+	16	+	+
Ac. tartr.	0	0	+	0	0	+
PEP	4	0	0	0	0	0
PGA	36	0	0	{ 72	0	0
Gluc.-P ..	24	0	0		0	0
Oses-P....	100	9,8	7,5	110	6	5
Saccharos.	91	195	190	99	143	150
Glucose .	7	13	12	13	9,6	10,6
Fructose .	3	6	6	7	6,4	5,8
Ac. aspart. sol. (1) ...	3,2	11,8	11	9,4	6	4,3
insol. (2)..	0	3	5	0	5	+
Ac. glutam (3) sol.	+	41,4	42	0	24,2	18,3
insol.	0	4	10	0	4	4
-α-alanine. sol.	55	4,2	1,5	37	1,4	1,1
insol.	0	10	16	0	8	8
Sérine + . glycocolle. sol.	56	27,6	13	76,4	34,5	20
insol.	0	17	26	0	23	28

(1) sol. = extrait soluble.

(2) Insol. = hydrolysate de la fraction insoluble.

(3) La valeur donnée est celle du total = acide glutamique + glutamine + acide pyrrolidone — carboxylique + acide γ-aminobutyrique.

activité des composés phosphorylés (acides+oses) décroît rapidement. La radioactivité des glucides, due essentiellement au saccharose, double (Tableau IV-1). Ce dernier fait ne peut pas s'expliquer par la seule hydrolyse de l'amidon. En effet la radioactivité de l'amidon estimée d'après celle du résidu insoluble est trop faible pour en rendre compte. Les oses phosphorylés se sont donc déphosphorylés, donnant des glucides faiblement condensés (saccharose) marqués. D'autre part, la radioactivité des acides aminés décroît et celle des acides organiques augmente.

Dans l'extrait soluble, la radioactivité du groupe sérine + glycocolle et de l' α -alanine devient très faible (Tableau IV-2). La fraction insoluble a été hydrolysée aux fins d'analyse et l'hydrolysât a été chromatographié. Il contient de l'acide aspartique, de l'acide glutamique, de la sérine, du glycocolle et de l' α -alanine radioactifs. Dans la fraction insoluble du témoin (lot I) il n'y a pas d'acides aminés radioactifs. A l'obscurité, les acides aminés de l'extrait soluble ont donc été partiellement intégrés dans les protéines de la fraction insoluble. Ces résultats s'accordent avec ceux de VICKERY et coll. (1940).

La radioactivité des acides phosphorylés (PGA, PEP) devient nulle. Les radioactivités des acides malique et aspartique augmentent, ainsi que celles des acides citrique, succinique et glutamique. La β -carboxylation est donc très active. Le cycle des acides tricarboxyliques fonctionne également, quoique plus lentement, et après 2 h déjà, il entraîne une dispersion de la radioactivité entre les acides citrique, succinique et glutamique. (La glutamine et l'acide γ -aminobutyrique étant des produits de transformation de l'acide glutamique, leur radioactivité a été ajoutée à celle de l'acide glutamique dans les résultats du Tableau IV-2). L'acide glutamique se formant par amination de l'acide α -cétoglutarique, sa radioactivité et celle de ses dérivés est donc liée au fonctionnement du cycle des acides tricarboxyliques au même titre que celle des acides citrique et succinique. BENSON et coll. (1950) avec des algues, STUTZ et coll. (1951) avec des feuilles de *Bryophyllum calycinum* et des feuilles de Tabac ont eux aussi constaté une augmentation de radioactivité des acides malique, citrique, succinique et glutamique, lorsqu'une période obscure succède à une période d'éclairement. Cette augmentation correspond à l'oxydation partielle d'une fraction des produits antérieurement photosynthétisés notamment des glucides (GYR, 1959).

Les glucides synthétisés à la lumière en présence de $^{14}\text{CO}_2$ ont très rapidement tous leurs atomes de carbone radioactifs (CALVIN et coll., 1952). Les produits de leur dégradation possèdent aussi plusieurs atomes de carbone radioactifs dans une molécule, d'où leur radioactivité élevée. De plus, les décarboxylations du

cycle tricarboxylique n'éliminent pas tous les atomes de carbone radioactifs et l'acide succinique est marqué, contrairement à ce qui a été observé dans l'expérience II.

3) *Redistribution à l'obscurité, en présence d'O₂ pur, de la radioactivité acquise en 6 mn à la lumière en présence d'O₂ (lots V et VI).*

La radioactivité des acides aminés et celle des composés phosphorylés décroît, celle des glucides augmente. Par contre, la radioactivité des acides organiques, élevée dès le début, varie peu (Tableau IV-1).

Comme précédemment, les oses phosphorylés se déphosphorylent pour donner des glucides condensés (saccharose). De même, la radioactivité de l' α -alanine et du groupe sérine+glycocolle décroît, une fraction de ces acides aminés étant intégrée dans les protéines de l'insoluble.

Par contre, la radioactivité de l'acide malique varie très peu et celle de l'acide aspartique diminue (Tableau IV-2). La radioactivité des acides citrique, glutamique et succinique augmente par rapport au témoin (lot IV), mais l'augmentation de radioactivité est plus faible que dans les deux cas précédents (lots II et III). Il y a bien β -carboxylation et fonctionnement actif du cycle tricarboxylique, mais l'évolution de la radioactivité n'exprime pas tout le cours du métabolisme.

a) D'une part, il n'y a pas assez de précurseurs radioactifs, c'est-à-dire d'acides phosphorylés marqués disponibles. En effet, pendant la période initiale d'éclairement, en présence d'O₂, les acides phosphorylés ont été rapidement utilisés dans la genèse non seulement des glucides mais également des acides malique, aspartique, de la sérine et du glycocolle (*cf.* témoin IV). Il en résulte leur épuisement au début de la période d'obscurité, tandis que, pour les feuilles mises en présence d'N₂, les acides phosphorylés non immédiatement réduits en oses ont eu tendance à s'accumuler (*cf.* exp. III). L'O₂ augmente donc la vitesse de la β -carboxylation du PEP. Cette action de l'O₂ sur la vitesse de la β -carboxylation a été aussi constatée par MOYSE (1955) qui a suivi parallèlement les échanges de gaz et les variations d'acidité des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* en fonction de la tension d'O₂.

b) D'autre part, il est possible qu'une fraction des acides engendrés soit complètement oxydée, ce qui entraînerait, après plusieurs heures, une chute appréciable de leur radioactivité.

4) *Les conditions de la genèse de l'acide tartrique.*

Lorsque les feuilles enrichies en glucides marqués par une fixation photosynthétique de ¹⁴CO₂ de 6 mn, sont ensuite placées

pendant 4 h à l'obscurité en présence d'O₂ pur, il se forme de l'acide tartrique radioactif, probablement par oxydation d'un des nombreux métabolites présents (lots III et VI). Il semble donc possible d'accélérer la synthèse de l'acide tartrique en employant des tensions d'O₂ élevées.

STAFFORD et coll. (1958) ont obtenu de l'acide tartrique marqué avec des feuilles de Vigne placées durant 3 h ou 24 h à la lumière en présence de ¹⁴CO₂. Le maximum de radioactivité est obtenu lorsque les feuilles de Vigne sont mises pendant 3 h à la lumière en présence de ¹⁴CO₂, puis 21 h à l'obscurité sans ¹⁴CO₂. Lorsque les feuilles sont placées pendant 24 h à l'obscurité en présence de ¹⁴CO₂, les glucides ne sont pas marqués et l'acide tartrique ne devient pas radioactif malgré la radioactivité élevée de l'acide malique. A la lumière, en 3 h, l'acide tartrique est plus marqué dans ses atomes de carbone internes (75%) que dans ses carboxyles (25%). Par contre, l'acide malique est plus marqué dans ses carboxyles (85%) que dans ses atomes de carbone internes (15%). Par suite, l'acide tartrique ne provient vraisemblablement pas de l'acide malique. D'après STAFFORD et coll., un ose est plus probablement le précurseur de l'acide tartrique. Cette hypothèse sera discutée dans le chapitre G.

CONCLUSIONS.

L'oxygène accélère la vitesse de la β -carboxylation et favorise la synthèse de l'acide tartrique.

Lorsque des feuilles qui ont fixé du ¹⁴CO₂, à la lumière, pendant des durées courtes, sont ensuite placées à l'obscurité dans l'oxygène, il se produit une redistribution active des métabolites radioactifs. Les oses phosphorylés se déphosphorylent en donnant du saccharose. Une fraction des acides aminés est intégrée dans les protéines de la fraction insoluble. Le PEP est β -carboxylé. Le cycle des acides tricarboxyliques fonctionne et les acides citrique, glutamique et succinique deviennent plus radioactifs.

F. — LE RÔLE DE L'OXYGÈNE DANS LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES.

Les deux expériences suivantes ont été faites afin de préciser le rôle d'O₂ dans la genèse de l'acide tartrique. Des feuilles sont d'abord enrichies en glucides radioactifs par une fixation photosynthétique durant une heure, puis elles sont placées dans une atmosphère riche ou pauvre en O₂, soit à la lumière, soit à l'obscurité.

EXPÉRIENCE V A (22 mai 1959).

Cinq lots de 3 feuilles chacun, fixent du $^{14}\text{CO}_2$, à 20 000 lux, dans une atmosphère d' $\text{N}_2 + 2\%$ d' O_2 . Au bout d'une heure, un lot témoin (I a) est fixé dans l'alcool bouillant. Deux lots sont mis à l'obscurité, dans une atmosphère d' O_2 pur, l'un pendant 2 h (II a), l'autre pendant 4 h (III a). Deux autres lots sont éclairés (20 000 lux), dans une atmosphère d' O_2 pur, l'un pendant 2 h (IV a), l'autre pendant 4 h (V a). Puis les feuilles sont fixées et les analyses sont faites. Les résultats sont exprimés dans les tableaux V A-1 et V A-2.

TABLEAU V-A 1

Exp. V A. — Radioactivités des différentes fractions en milliers de coups par mn et par g de substance sèche et pourcentages.
Feuilles; PF moyen = 10,70 g PS moyen = 0,74 g H_2O en % du PS = 1353.

		1 h Lum. ; $^{14}\text{CO}_2 + (\text{N}_2 + 2\% \text{ d'O}_2)$									
		Témoin		+ 2 h Obs. O_2	+ 4 h Obs. O_2 (1)	+ 2 h Lum. O_2	+ 4 h Lum. O_2				
		Ia	IIa	IIIa	IVa	Va					
Fraction insoluble ...		709	1520	554	962	1016					
Extrait soluble (somme).....		2461	2558	3016	2262	2520					
Répartition dans l'extrait soluble		Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%
	Composés-P ..	91	3,70	131	5,10	111	3,70	66	2,90	72	2,80
	Ac.-organiques	84	3,40	134	5,20	204	6,90	57	2,50	78	3,10
	Ac. aminés ..	96	3,90	133	5,30	241	7,90	49	2,30	45	1,90
	Glucides.	2190	89	2160	84,40	2460	81,50	2090	92,30	2325	92,20

EXPÉRIENCE V-B (22 juillet 1959).

Parallèlement trois lots de feuilles sont éclairés pendant 1 h à 20 000 lux en présence de $^{14}\text{CO}_2$, dans une atmosphère d' $\text{N}_2 + 2\%$ d' O_2 . Après 1 h un lot témoin est fixé (I b). Les deux autres lots sont mis dans l'azote ($\text{O}_2 < 0,2\%$) pendant 4 h, l'un à 20 000 lux (II b) l'autre à l'obscurité (III b). Les résultats des analyses figurent dans les tableaux V B-1 et V B-2.

(1) Valeur un peu supérieure à celle qu'on aurait dû obtenir. Une partie du $^{14}\text{CO}_2$ n'a pas été éliminée à la fin de la période d'éclairement.

Dans les deux expériences l'activité, du $^{14}\text{CO}_2$ est très voisine de $200\mu\text{C}$, la tension partielle de CO_2 est de 0,99% et la température de 25°C .

TABLEAU V-A 2

Exp. V A. — Radioactivités des principaux métabolites en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

	1 h Lum. ; $^{14}\text{CO}_2$ (+ N_2 + O_2 2%)				
	Témoin	+ 2 h Obs. O_2	+ 4 h Obs. O_2 (1)	+ 2 h Lum. O_2	+ 4 h Lum. O_2
	Ia	IIa	IIIa	IVa	Va
Ac. malique	36	56	151	21	22
Ac. citrique	3,6	10	27	2,5	2
Ac. succinique	0	8	36	0	0
Ac. shikimique	4	3	4	5	3
Ac. tartrique.....	0	6	4	3,4	5,7
PGA	6	8	5	9	8
Glucose-P	13	20	30	11	11
Oses-P.....	40	74	93	44	29
Saccharose.....	1910	1400	1670	1516	1270
Glucose	93	180	188	290	382
Fructose	57	176	166	245	342
Ac. aspartique	7	8	21	2	2
Ac. glutamique (2)....	12	31	96	6	7
α -alanine sol.....	4	11	15	2	1
insol.	8	16	21	10	13
sérine + glycoColle....					
soluble	14	7	10	3	4
insoluble	19	39	30	26	27

1) La répartition du radiocarbonate après une heure de photosynthèse (Lot I a et I b, tableaux V A-1, V A-2, V B-1, V B-2).

Lorsque des feuilles fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à la lumière pendant

(1) Valeurs supérieures aux valeurs qu'on aurait dû obtenir ($^{14}\text{CO}_2$ résiduel).

(2) Ac. glutamique + Ac. pyrrol. carb.

1 h, la majeure partie de la radioactivité de l'extrait soluble est retrouvée dans les glucides (89% et 91,30%) et plus précisément dans le saccharose. Il n'y a pas accumulation d'oses phosphorylés comme dans les courtes périodes employées dans les expériences précédentes. Les hexoses, quelques acides organiques et acides aminés sont également radioactifs. La fraction insoluble comprenant en particulier de l'amidon est très radioactive.

2) *Redistribution à l'obscurité de la radioactivité fixée à la lumière.*

a) *En atmosphère d'O₂* (lots II a et III a). A l'obscurité, en présence d'O₂ on n'observe pas comme dans l'expérience IV (fixation de courte durée) une chute de la radioactivité des composés

TABLEAU V-B 1

Exp. V B. — Radioactivités des différentes fractions en milliers de coups par mn et par g de substance sèche et pourcentages.

Feuilles = PF moyen = 12,6 g PS moyen = 1,20 g H₂O en % du PS = 940.

		1 h Lum. ; ¹⁴ CO ₂ + (N ₂ +2% O ₂)					
		Témoin Ib		+ 4 h Lum. N ₂ IIb		+ 4 h Obs. N ₂ IIIb	
Fraction insoluble		488		525		416	
Extrait soluble (somme)		1686		1613		1204	
Répartition dans l'extrait soluble.		Rad.	%	Rad.	%	Rad.	%
	Composés-P. . . .	35	2,10	38	2,30	16	1,30
	Ac. organiques..	35	2	30	1,90	110	9,10
	Ac. aminés	77	4,60	114	7,10	226	18,90
	Glucides.....	1539	91,30	1431	88,70	852	70,70

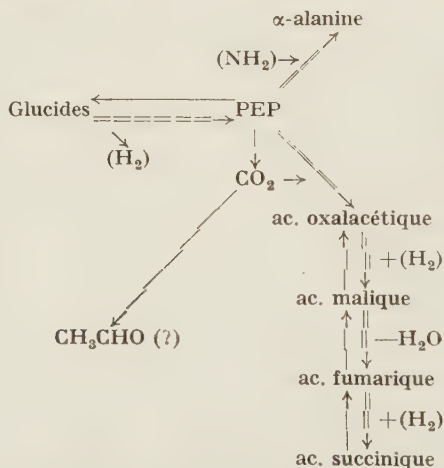
phosphorylés, la condensation des oses phosphorylés en saccharose et en amidon s'étant déjà produite pendant la période d'illumination. Il y a au contraire, en présence d'O₂, une faible augmentation de la radioactivité des composés phosphorylés qui peut être liée soit à la dégradation du glucose (*cf.* exp. VI A) par la voie des pentoses-phosphates ou par celle de la glycolyse, soit à l'hydrolyse phosphorylante de l'amidon.

De même, il n'y a pas diminution de la radioactivité de l' α -alanine et du groupe sérine+ glycocolle. Ces acides aminés ont

été partiellement intégrés dans les protéines de la fraction insoluble pendant la période initiale d'éclairement. Comme dans l'expérience IV, la radioactivité des acides malique, citrique, succinique et glutamique augmente. Il y a β -carboxylation et, par l'intermédiaire de l'acétyl-coenzyme A, intégration dans le cycle des acides tricarboxyliques de chaînes carbonées provenant de la dégradation du glucose radioactif (*cf.* exp. VI-A).

b) *En atmosphère d' N_2* (lot III b). A l'obscurité, en présence d' N_2 , après 4 h, les limbes commencent à s'altérer et à brunir. La radioactivité des glucides décroît, celle des acides organiques et des acides aminés augmente. Il s'accumule de l'acide succinique, de l' α -alanine et un peu d'acide γ -aminobutyrique radioactifs.

RANSON (1953), MOYSE et coll. (1956) ont obtenu des résultats analogues avec diverses feuilles en anaérobiose. La radioactivité de l'acide malique augmente également mais moins qu'en atmosphère d' O_2 . Il y a probablement dégradation des glucides, par la voie anaérobie d'EMBDEN-MEYERHOF jusqu'au stade de l'acide phosphoénol-pyruvique. La plus grande partie de cet acide pyruvique donne naissance à l' α -alanine. Une autre fraction fournit, après β -carboxylation, de l'acide malique et de l'acide succinique, selon le schéma suivant :



Le CO_2 nécessaire à la β -carboxylation pourrait provenir de la décarboxylation de l'acide pyruvique ou d'une autre décarboxylation, par exemple celle de l'acide glutamique en acide γ -aminobutyrique. L'anaérobiose favorise, en effet, la décarboxylation de l'acide glutamique (NAYLOR et coll., 1956).

3) *Redistribution à la lumière de la radioactivité fixée préalablement au cours de la photosynthèse.*

a) *En atmosphère d'O₂ (lots IV a et V a).* En présence d'O₂ à la lumière, la redistribution de la radioactivité est faible. Notamment, la radioactivité des acides malique, citrique et glutamique

TABLEAU V-B 2

Exp. V B. — Radioactivités des principaux métabolites en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

	1 h Lum. ; ¹⁴ CO ₂ + (N ₂ + O ₂ 2 %)		
	Témoin Ib	+ 4 h Lum. N ₂ IIb	+ 4 h Obs. N ₂ IIIb
Ac. malique.....	9	17	34
Ac. citrique	3	3	6
Ac. succinique	0	2	45
Ac. tartrique	0	0	0
PGA	4	3	6
Glucose-P	3	8	2
Oses-P.....	18	26	6
Saccharose.....	1350	1358	273
Glucose	50	78	237
Fructose	38	62	218
Ac. aspartique	2	5	+
Ac. glutamique	4	11	+
Ac. pyrrol-carb.	0	6	0
α-alanine soluble.....	11	24	127
insoluble ...	7	17	9
sérine + glyecolle sol...	14	15	7
insol.	19	27	24
Ac. γ-aminobutyrique..	3	7	11

est peu modifiée, avec cependant une tendance générale à la diminution. L'acide succinique ne devient pas radioactif. Les faibles variations résultent de multiples réactions, elles traduisent le bilan d'un grand nombre d'oxydo-réductions, de l'oxydation partielle ou totale des acides (*cf.* exp. I A) fournissant lentement

du CO_2 à la β -carboxylation et aux réactions photosynthétiques (cf. exp. II).

b) *En atmosphère d' N_2* (lot II b). En présence d' N_2 à la lumière, les limbes ne s'altèrent pas. Avec des feuilles de *Bryophyllum*, MOYSE (1955 b) a montré que, dans l'azote à la lumière, en l'absence de CO_2 externe, il y a une chute d'acidité faible et un dégagement d'oxygène. La photosynthèse utilise le carbone de l'acide malique et le CO_2 provenant des décarboxylations. L'oxygène dégagé suffit à éviter l'altération des tissus foliaires.

Les modifications sont très faibles, en raison de la lenteur des oxydations qui conditionnent la reprise dans le métabolisme du radiocarbone préalablement fixé. Cette faible redistribution est comparable à celle trouvée dans les feuilles de *Bryophyllum* (MOYSE, 1959).

4) La synthèse de l'acide tartrique.

Après une heure de photosynthèse en présence de $^{14}\text{CO}_2$, l'acide tartrique n'est pas radioactif.

Lorsque des feuilles enrichies en glucides radioactifs par une fixation photosynthétique d'une heure sont ensuite placées deux heures dans l' O_2 , l'acide tartrique devient radioactif aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité. Par contre, lorsque les feuilles sont placées dans N_2 il n'apparaît pas d'acide tartrique marqué. L'oxygène est indispensable à la genèse de l'acide tartrique, aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité.

La radioactivité de l'acide tartrique est toujours faible. Ses variations au cours du temps ou en fonction de l'éclairement ne sont pas assez importantes pour être interprétées. Cependant, sa genèse semble indépendante de celle des acides du cycle tricarboxylique puisqu'elle ne présente aucune relation directe avec les variations des acides malique et citrique.

G. — L'UTILISATION DU GLUCOSE U^{14}C ET DE L'ACÉTATE 2^{14}C PAR LES FEUILLES DE *PELARGONIUM DELTATUM* L. DANS L'AIR ET DANS L'OXYGÈNE.

EXPÉRIENCE VI A (19 octobre 1959).

L'expérience porte sur 2 feuilles de *Pelargonium* qui absorbent du glucose dont tous les atomes de carbone sont marqués. Chaque feuille trempe par son pétiole dans $0,2 \text{ cm}^3$ de la solution de glucose ($250 \text{ } \gamma$, $25 \text{ } \mu\text{C}$ par feuille). Chaque feuille est mise à l'obscurité, à 24°C , dans un dessiccateur contenant de l'air pour l'une, de l'oxygène pour l'autre. Après 5 h, les pétioles sont coupés et les limbes sont fixés par projection dans l'alcool méthylique bouillant.

EXPÉRIENCE VI B (19 février 1960).

L'expérience est faite avec deux feuilles également alimentées en $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$ (180 γ , 20 μC dans 0,3 cm^3 d'eau, par feuille). Comme précédemment, les feuilles sont placées à l'obscurité à 24°C, pendant 5 h, l'une dans l'air, l'autre dans O_2 pur.

Les résultats des analyses, pour les 2 expériences, figurent dans les tableaux VI-1 et VI-2.

TABLEAU VI-1

Radioactivités des différentes fractions de l'extrait soluble en milliers de coups par mn et par g de substance sèche.

Exp. VI A. — Feuille : PF moyen = 4,59 g PS moyen = 0,41 g
 H_2O en % du PS = 889.

Exp. VI B. — Feuille : PF moyen = 3,21 g PS moyen = 0,18 g
 H_2O en % du PS = 1600.

Obscurité - Durée : 5 h - T = 24°C.

	Exp. VI A Glucose U^{14}C		Exp. VI B. $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$	
	Air	O_2	Air	O_2
Extrait soluble total	437	399	594	1081
Composés-P.....	26	37	0	0
Ac. organiques ..	152	92	291	474
Ac. aminés	119	86	230	470
Fraction neutre (glucides)	140	184	73	137

1) *Le métabolisme du glucose U^{14}C à l'obscurité dans l'air et dans l' O_2 .*

Les radioactivités totales retrouvées dans les limbes sont voisines dans les 2 lots. La faible différence de radioactivité obtenue est due vraisemblablement à une absorption plus faible de la solution de glucose par la feuille placée dans l' O_2 (cf. expérience de contrôle, tableau VI-3).

La répartition de la radioactivité est différente dans les deux feuilles. En présence d'air, 32% de la radioactivité retrouvée correspondent à des oses. Le reste correspond à des acides organiques (35%) et à des acides aminés (27%). En présence d' O_2 , près de la moitié de la radioactivité est due aux glucides (46,20%). L'autre fraction correspond à des acides organiques (23%) et à des acides aminés (21,50%). Cette différence ne peut être inter-

prélée dans le cas présent, car elle n'a pas été retrouvée dans l'expérience contrôlée.

TABLEAU VI-2

Radioactivités des métabolites de la fraction soluble, en pourcentage de la radioactivité retrouvée après chromatographie.

	Exp. VI-A - Glucose U ¹⁴ C		Exp. VI-B - ¹⁴ CH ₃ COONa	
	Air	O ₂	Air	O ₂
Ac. malique.....	25,5	7,2	25	18,8
Ac. citrique.....	4,8	4,9	16,3	16,2
Ac. succinique ...	2,3	1,3	4,6	4,3
Ac. tartrique	0	1,1	0	0
1 ac. inconnu (1) .	0	0	3,5	2,5
3 ac. inconnus (2).	1,5	7,8	0	0
PGA	1,2	1,8	0	0
Oses-P.....	4,7	7,6	0	0
Saccharose.....	15,5	19,5	0	0
Glucose	3,6	4	0	0
Fructose	2,4	3	0	0
Fraction neutre, non identifiée...	10,8	19,7	12,4	12,7
Ac. aspartique ...	3	2,7	traces	3,5
Ac. glutamique...	7,2	7,8	5,7	31,5
Glutamine (3) ...	9,5	4,8	7,5	7
Ac. γ-aminobuty- rique.....	2	1,3	16	1
α-alanine.....	1	2	2	2,5
Ac. aminés inconnus	5	3,5	7	0

L'examen du tableau VI-2 montre que le glucose absorbé par les feuilles est partiellement condensé en saccharose et partiellement transformé en d'autres glucides (fructose, oses P).

(1) Le RF est celui de l'acide malonique

(2) Il s'agit probablement d'acides polyhydroxylés.

(3) Glutamine + ac. pyrrol. carb.

VITTORIO et coll. (1954) avec des feuilles de Tabac ont montré que la condensation en saccharose du glucose absorbé, est précédée d'une conversion rapide de ce glucose en fructose. Il s'est formé aussi des oses inconnus, appartenant aux groupes des pentoses et des tétroses, par suite de l'oxydation du glucose par la voie des pentoses-phosphates (*cf.* BEEVERS et coll., 1954 ; GIBBS et coll. 1954).

Ce glucose a été aussi partiellement oxydé par la voie du cycle des acides tricarboxyliques comme en témoigne la radioactivité des acides malique, citrique, succinique et glutamique.

MOSES et coll. (1959) avec *Chlorella pyrenoidosa*, MERRETT et coll. (1960) avec *Chlorella vulgaris* ont obtenu, pendant des périodes assez courtes (3 mn à 15 mn), une distribution analogue du radiocarbone du glucose $U^{14}C$ entre le saccharose, les oses phosphorylés, et les différents constituants du cycle des acides tricarboxyliques.

2) L'utilisation de l'acétate dans le cycle des acides tricarboxyliques, à l'obscurité, en fonction de la tension d' O_2 .

L'examen des données des tableaux VI-1, VI-2 et VI-3 montre les faits suivants. Dans la première expérience, la radioactivité totale retrouvée est plus élevée dans O_2 que dans l'air. Cette augmentation de radioactivité est probablement due à une absorption plus importante de la solution d'acétate. En effet, dans l'expérience de contrôle, l'augmentation de radioactivité en présence d' O_2 n'a pas été retrouvée, les quantités d'acétate absorbées ayant été voisines dans les deux lots.

Les composés phosphorylés ne sont pas radioactifs, les glucides non plus. La radioactivité de la fraction neutre, représentée habituellement par des glucides, est due en partie à un composé inconnu dont le R_f sur les chromatogrammes à deux dimensions est voisin de celui des trioses. Pour une autre part, elle correspond probablement à des peptides.

Dans les feuilles, l'incorporation du radiocarbone du groupe méthyle de l'acétate dans les glucides a été observée seulement à la lumière, par suite de la reprise dans la photosynthèse du $^{14}CO_2$ dégagé (*cf.* KROTKOV et coll., 1954 ; VERCIER et coll., 1956). Cette incorporation est connue pour être très intense dans les tissus de la graine de Ricin, qui sont caractérisés par leur grande aptitude à convertir les lipides en glucides (BEEVERS, 1957).

Dans les deux lots, près de 80% de la radioactivité totale retrouvée dans l'extrait soluble sont dus aux acides organiques et aux acides aminés dérivés du cycle tricarboxylique (*cf.* Pl. IV).

En présence d'air, les acides malique, citrique et γ -aminobutyrique sont très radioactifs. Les acides succinique, glutamique et la glutamine sont moins marqués. L'acide fumarique n'est pas radioactif, l'acide aspartique est faiblement marqué. Il se forme de l' α -alanine radioactive par transamination d'acide pyruvique marqué, qui peut provenir de la décarboxylation de l'acide oxalacétique formé à partir de l'acétate.

En présence d' O_2 , la radioactivité de l'acide malique et de l'acide citrique est doublée. Mais l'excès d'acétate absorbé se

TABLEAU VI-3

Expériences de contrôle. — Radioactivités en milliers de coups par mn et par feuille.

Radioactivité retrouvée	Glucose $U^{14}C$		$^{14}CH_3 COONa$	
	Air	O_2	Air	O_2
Dans le limbe	177	148	99	100
Dans le pétiole ...	61	59	52	60
Dans le $^{14}CO_2$ dégagé (1).	—	—	34	28
Dans la solution non absorbée ...	69	87	164	226
Total	307	294	349	414
Radioactivité initiale.....	477		440	
Poids du limbe sec en mg.....	254	260	263	274

traduit surtout par une importante formation d'acide glutamique radioactif, qui contraste avec la radioactivité toujours faible de l'acide succinique. L'acide γ -aminobutyrique est proportionnellement beaucoup moins radioactif que dans l'air. Ceci serait dû à l'action de l'oxygène qui ralentirait la décarboxylation de l'acide glutamique (NAYLOR et coll., 1956 ; WARBURG et coll., 1957).

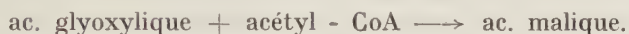
L'acétate est une source de carbone pour de nombreuses Bactéries (*cf.* KORNBERG, 1959) et pour les Chlorelles (FUJITA,

(1) Radioactivité mesurée selon la technique mise au point au laboratoire par JOLCHINE (1959).

1959). Pour les végétaux supérieurs, il ne constitue pas un métabolite normal, bien que les plantes soient capables de l'utiliser. Sa conversion en acide malique et en acide citrique a été observée dans les feuilles de Tabac (ZBINOWSKY, 1952), dans le fruit de la Tomate (WANG et coll., 1953) et dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* (JOLCHINE) (1). La formation prédominante d'acide glutamique à partir d'acétate a été observée à la lumière comme à l'obscurité pendant des périodes longues (48 h) avec des feuilles de Merisier (VERCIER, 1956) et pendant des périodes très courtes (3 mn à 15 mn) avec des Chlorelles (MOSES, 1959 ; MERRETT, 1960).

L'utilisation de l'acétate est probablement précédée par la formation d'acétyl-coenzyme A. L'acétyl peut alors entrer dans le cycle des acides tricarboxyliques, après sa condensation avec l'acide oxalacétique et la formation d'acide citrique.

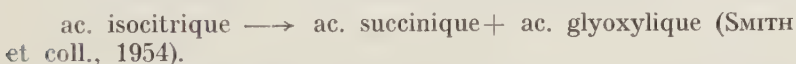
Il peut aussi se condenser avec l'acide glyoxylique :



Cette dernière réaction est catalysée par la malate-synthétase. Cette enzyme, découverte en premier lieu chez des microorganismes par WONG et coll. (1956), existe aussi dans les plantes supérieures (YAMAMOTO et coll., 1960).

La synthèse d'acide malique à partir d'acétyl-CoA et d'acide glyoxylique a été mise en évidence dans la graine de Ricin (KORNBERG et coll., 1957, b) et dans le fruit de la Tomate (DOYLE et coll., 1960).

Elle est subordonnée à la présence d'acide glyoxylique dans la plante. Une des réactions connues, conduisant à la formation d'acide glyoxylique, est celle que catalyse l'isocitritase :



Cette enzyme n'est pas très répandue dans les plantes supérieures. Elle existe surtout dans les tissus où la dégradation des lipides est intense (CARPENTER et coll., 1959).

L'intervention simultanée de la malate-synthétase et de l'isocitritase constitue une partie du cycle glyoxylique des oxydations des acides organiques (KORNBERG, et coll. 1957 a).

L'acide glyoxylique peut également se former par oxydation de l'acide glycolique par la glycolique-oxydase (ZELITCH et coll., 1953). L'acide glycolique peut provenir de la rupture des molécules de pentoses (WEISSBACH et coll., 1955).

(1) Non publié.

3) La genèse de l'acide tartrique.

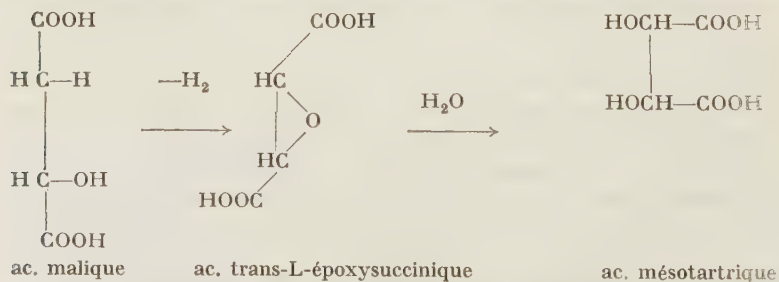
Lorsque des feuilles sont alimentées en glucose $U^{14}C$, à l'obscurité, en présence d'air, il ne se forme pas d'acide tartrique radioactif décelable après 5 h.

Par contre, en atmosphère d' O_2 pur, la radioactivité de l'acide tartrique est très nette (cf. Pl. I-2). On peut penser que l'acide tartrique s'est formé par l'oxydation, soit d'un ose, soit d'un des métabolites du cycle tricarboxylique, l'acide malique par exemple.

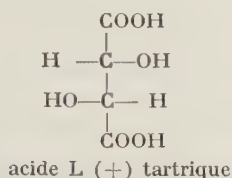
Lorsque des feuilles sont alimentées en acétate, presque toute la radioactivité est retrouvée dans les métabolites du cycle tricarboxylique. Les oses ne sont pas radioactifs et il ne se forme pas d'acide tartrique radioactif, ni en présence d'air, ni en présence d' O_2 (GYR, 1960).

D'après les résultats de ces deux expériences, dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* L., l'acide tartrique ne se formerait donc pas au cours des oxydations liées au cycle des acides tricarboxyliques. Sa genèse ne serait pas liée à celle de l'acide malique, qui, dans cette espèce, est très abondant. Il prendrait naissance aux dépens des glucides par une autre voie d'oxydation. Cette conclusion s'accorde avec celle de STAFFORD et coll. (1958) à propos du métabolisme de la feuille de Vigne (cf. chapitre E). Elle s'oppose à l'hypothèse de RIBEREAU-GAYON (1959, a et b) selon laquelle les acides malique et citrique, formés dans les racines de la Vigne, donneraient de l'acide tartrique par leur oxydation partielle après leur migration dans les feuilles.

Plusieurs microorganismes sont bien capables de faire la synthèse de l'acide mésotartrique à partir de l'acide trans-L-époxy succinique (MARTIN et coll., 1955). Cet acide pourrait se former par déshydrogénation de l'acide malique, ce qui donnerait :



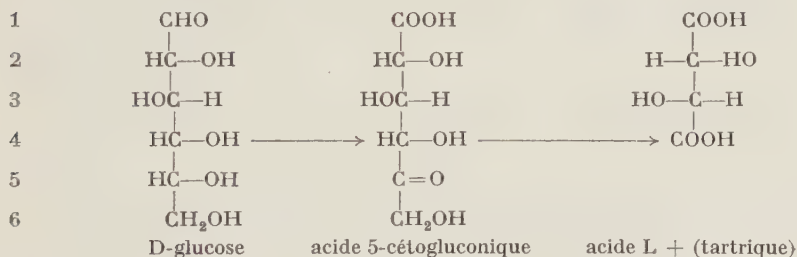
Mais ce schéma ne peut être retenu, en raison de l'indépendance de l'acide tartrique vis-à-vis de l'acide malique. De plus, dans les feuilles de Vigne et de *Pelargonium*, l'acide tartrique est dextrogyre (STAFFORD, 1959). Sa formule, qui le rattache néanmoins à la série L, est la suivante :



En tenant compte de cette formule, la genèse de l'acide L (+) tartrique, par oxydation directe des oses, pourrait se faire :

1^o par la voie de l'acide 5-cétogluconique.

Plusieurs Bactéries réalisent la synthèse de l'acide L (+) tartrique à partir d'acide 5-cétogluconique (JACKSON et coll., 1949 ; KHESGI, 1954). Dans les feuilles des plantes supérieures on peut supposer une oxydation du D-glucose en acide 5-cétogluconique, puis l'élimination des atomes de carbone 5 et 6 du glucose. Les atomes de carbone 2 et 3 du glucose correspondent alors aux atomes de carbone internes de l'acide L (+) tartrique (VICKERY et coll., 1954).



Cette hypothèse n'a pas été confirmée par STAFFORD (1958). Cet auteur a fait absorber de l'acide 5-cétogluconique à des feuilles de Haricot, et n'a pas constaté d'augmentation dans la teneur en acide tartrique de ces feuilles.

2^o Par l'intermédiaire d'un acide uronique.

Plusieurs réactions faisant intervenir les acides uroniques ont été mises récemment en évidence dans les plantes. Elles pourraient constituer des étapes intermédiaires dans la synthèse de l'acide L (+) tartrique. Il s'agit d'une part des réactions du cycle des acides uroniques dont certaines sont liées à la synthèse de l'acide L-ascorbique (HORECKER, 1958), d'autre part de la décarboxylation de l'acide D-glycuronique en D-xylose (SLATER et coll., 1958).

3° Par une suite de réactions de transcétolisation et de transaldolisation, faisant intervenir les enzymes de la voie des phosphopentoses, et donnant lieu à la formation d'un fragment à 4 atomes de carbone, comme le L-thréose, dont les 2 atomes de carbone internes ont la même configuration stéréochimique, que les atomes de carbone internes de l'acide L (+) tartrique. Une oxydation ultérieure donnerait de l'acide L (+) tartrique.

Ces différentes hypothèses devront être éprouvées par exemple, par l'emploi de glucose, d'acide gluconique et d'acide glycuronique, marqués sur un carbone donné, ce qui permettrait de voir où et comment se fait la coupure de l'hexose.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'étude du métabolisme des acides organiques dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* L. conduit aux conclusions suivantes :

1) Trois acides s'accumulent dans ces feuilles : l'acide malique, l'acide tartrique et l'acide oxalique, ce dernier sous forme d'oxalates insolubles. Les acides citrique, aconitique, succinique, fumarique et shikimique ne sont présents qu'en petites quantités. Il n'y a pas d'accumulation d'acide isocitrique comme chez les Crassulacées. L'acide pyrrolidone carboxylique isolé provient, au moins en majeure partie, de la transformation de la glutamine au cours des extractions.

Le tableau VII résume les principales variations observées dans le métabolisme des acides organiques dans les feuilles de *Pelargonium peltatum* L. en fonction des conditions physiques qui leur sont imposées.

2) Dans ces feuilles, le métabolisme de l'acide malique est analogue à celui que l'on peut constater dans les feuilles des Crassulacées.

Lorsque des feuilles de *Pelargonium peltatum*, riches en acides organiques, sont éclairées pendant une longue période, leur acidité totale diminue par suite de l'oxydation d'une fraction de l'acide malique. Cette chute d'acidité est plus faible que celle que l'on observe chez les Crassulacées.

Elle ne se produit plus lorsque les feuilles sont éclairées en présence de 5% de CO₂. Le maintien de l'acidité, dans ces conditions, rapproche encore le métabolisme de ces feuilles de celui des feuilles des plantes grasses.

Lorsque des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. pauvres en acides et riches en glucides, à la suite d'un séjour prolongé à la lumière, sont placées dans une atmosphère riche en CO₂, elles accumulent de l'acide malique, à la lumière et à l'obscurité. Elles sont alors le siège d'une β -carboxylation intense.

L'accumulation d'acide malique n'est pas favorisée par les basses températures.

La β -carboxylation peut être décelée en présence d'une faible tension partielle de CO₂, par l'emploi de ¹⁴CO₂. On obtient alors un marquage rapide de l'acide malique et de l'acide aspartique.

TABLEAU RÉCAPITULATIF VII

I. — EXPÉRIENCES PRÉLIMINAIRES :		
TRAITEMENTS	RÉSULTATS	CONCLUSIONS
1) Illumination (5000 lux) prolongée (17 et 23 h) dans l'air sans CO ₂ . Exp. I A.	Diminution de l'acidité totale et de l'acidité libre dues à la diminution de l'ac. malique. Ac. tartrique = C ^{1e}	
2) Obscurité (7 h) en présence d'air ordinaire, après une illumination prolongée (17 h). Rôle de la température (5° C, 10° C et 26° C). Exp. I A.	Réacidification faible, non favorisée par l'abaissement de la température.	Dans l'air ordinaire ou dans l'air sans CO ₂ : désacidification à la lumière portant essentiellement sur l'ac. malique. Cette désacidification ne se produit pas lorsque la tension partielle de CO ₂ est augmentée. Dans l'air ordinaire, à l'obscurité, la réacidification est faible.
3) Fortes tensions partielles de CO ₂ (5 %).		
<i>pré-traitement</i>		
24 h d'illumination (5000 lux) dans l'air sans CO ₂ (feuilles appauvries en acides). Exp. I B	Augmentation de l'ac. malique. Ac. tartrique = C ^{1e} .	Il y a réacidification à la lumière et à l'obscurité, en présence d'une tension partielle de CO ₂ élevée. La température n'a pas d'effet sur l'accumulation d'ac. malique. Les variations de l'ac. tartrique sont négligeables.
	Augmentation de l'ac. malique peu dépendante de la température. Ac. tartrique = C ^{1e} .	
Obs. (nuit normale) (feuilles non appauvries en acides). Exp. I C	Diminution de l'ac. malique. Ac. tartrique = C ^{1e} .	
	Ac. malique = C ^{1e} , Ac. tartrique = C ^{1e} .	

II. — ROLE DE LA PRE-ILLUMINATION

TRAITEMENTS		RÉSULTATS		CONCLUSIONS
<i>pré-traitement</i>	<i>traitement</i>		radioactif	
Fixation de $^{14}\text{CO}_2$ avec ou sans pré-illumination. Exp. II.				
Pré-illumination (5000 lux), 20 h dans air sans CO_2	6 mn, 20 000 lux, $^{14}\text{CO}_2$ + air.	$(\text{CO}_2) = 0,032\%$ $150 \mu\text{C}, 24^\circ\text{C}.$	Photosynthèse et β -carboxylation active.	Il y a β -carboxylation à la lumière et à l'obscurité. La β -carboxylation est plus forte lorsque les feuilles sont pré-illuminées. Elle est très intense à la lumière dans les <i>feuilles pré-illuminées</i> (carboxylation du Ru DP).
	6 mn, Obs., $^{14}\text{CO}_2$ + air.		β -carboxylation active.	
	6 mn, 20 000 lux, $^{14}\text{CO}_2$ + air.		Photosynthèse et β -carboxylation active.	
Obscurité (nuit normale)	6 mn, Obs., $^{14}\text{CO}_2$ + air.		β -carboxylation active.	

III. — ROLE DE LA TENSION PARTIELLE D' O_2 .

TRAITEMENTS		RÉSULTATS		CONCLUSIONS
<i>pré-traitement</i>	<i>traitement</i>		radioactif	
Tension partielle d' O_2 très forte ou très faible avant la fixation du $^{14}\text{CO}_2$. Exp. III.				
Pré-illumination (3500 lux), 15 h dans N_2 + 2 % d' O_2 .	6 mn, 20 000 lux, $^{14}\text{CO}_2$ + N_2 .	$145 \mu\text{C}, 24^\circ\text{C}.$ $(\text{CO}_2) = 0,030\%$	Photosynthèse très intense et β -carboxylation.	A la lumière comme à l'obscurité, la genèse du malique est favorisée par O_2 . A la lumière en présence d'une faible tension partielle d' O_2 la photosynthèse est plus intense qu'en présence d'une forte tension d' O_2 .
	6 mn, Obs., $^{14}\text{CO}_2$ + N_2 .		β -carboxylation.	
	6 mn, 20 000 lux, $^{14}\text{CO}_2$ + O_2 .		Photosynthèse plus faible que dans N_2 mais la β -carboxylation est favorisée par O_2 .	
Pré-illumination (3500 lux) 15 h dans O_2 pur	6 mn, Obs., $^{14}\text{CO}_2$ + O_2		β -carboxylation favorisée par O_2 .	

IV. — REDISTRIBUTION

TRAITEMENTS		RÉSULTATS		CONCLUSIONS
Exp. IV				
Tension partielle d'O ₂ très forte ou très faible après la fixation à la lumière du ¹⁴ CO ₂ .	pré-traitement	traitement témoin	Photosynthèse et β-carboxylation.	radioactif tartrique
			0	
	¹⁴ CO ₂ + N ₂ + 2% O ₂	2 h Obs., 24°C, O ₂ pur.	Poursuite de la β-carboxylation. Fonctionnement du cycle des ac. tricarboxyliques. Condensation des hexoses en saccharose. Synthèse de protéines.	0
		4 h Obs., 24°C, O ₂ pur.		+
		témoin	Photosynthèse ; β-carboxylation plus rapide que dans N ₂ .	0
		2h Obs., 24°C, O ₂ pur. 4 h Obs., 24°C, O ₂ pur.	Redistribution de la radioactivité analogue à celle obtenue ci-dessus mais plus faible.	0 +
¹⁴ CO ₂ + O ₂ pur.				
Exp. V A et V B				
pré-traitement	traitement			
	témoin (exp. V A)		Photosynthèse : genèse intense de <i>saccharose</i> .	0
	2 h Obs., O ₂		Redistribution de la radioactivité voisine de celle observée dans l'exp. IV, <i>cf.</i> ci-dessus.	+
	4 h Obs. O ₂			+
A la lumière, comme à l'obscurité, l'ac. tartrique radioactif ne se forme qu'en présence d'O ₂ pur.				

TRAITEMENTS		RÉSULTATS		CONCLUSIONS
V. — MÉTABOLISME DU GLUCOSE U ¹⁴ C ET DE ¹⁴ CH ₃ COONa.				
Absorption par le pétiole de glucose U ¹⁴ C. Exp. VI A.				
pré-traitement	traitement		tartrique radioactif	
0	Glucose U ¹⁴ C, 5 h Obs., 24°C, air	Le saccharose et différents oses sont radioactifs ainsi que les <i>métabolites du cycle tricarboxylique</i> .	0	L'acide tartrique ne se forme pas par oxydation de l'ac. malique, mais par une voie directe d'oxydation des oses.
	Glucose U ¹⁴ C, 5 h Obs., 24°C, O ₂ pur.		+	
Absorption par le pétiole d'acétate 2 ¹⁴ C. Exp. VI B.				
pré-traitement	traitement			
0	Acétate 2 ¹⁴ C, 5 h Obs., 24°C, air	Seuls les <i>métabolites du cycle tricarboxylique</i> sont radioactifs, les glucides ne le sont pas.	0	
	acétate 2 ¹⁴ C, 5 h Obs., 24°C, O ₂ pur		0	

1 h 20 000 lux.	14CO ₂ + (N ₂ + 2% O ₂)
2 h 20 000 lux, O ₂	
4 h 20 000 lux, O ₂	
témoin (exp. V B)	
4 h 20 000 lux, N ₂	
4 h Obs., N ₂	

Faible redistribution de la radioactivité.	+	Dans N ₂ pur, l'ac. tartrique ne devient pas radioactif, mais il s'accumule de l'ac. succinique et de l'α-alanine marqué.
Photosynthèse : genèse intense de <i>saccharose</i> .	+	
Faible redistribution de la radioactivité.	0	
Décroissance des <i>glucides</i> ; formation d' <i>ac. succinique</i> et d' <i>α-alanine</i> .	0	

La genèse de ces acides est très intense à la lumière lorsque les feuilles ont été saturées en glucides par une pré-illumination prolongée. Elle est donc probablement liée à la carboxylation photosynthétique préalable du RuDP, et son mécanisme serait alors analogue à celui qui a été proposé à propos des Crassulacées, une première carboxylation entraînant la genèse du P G A et une seconde celle de l'acide oxalacétique.

Le métabolisme des acides organiques dans les feuilles de *Pelargonium* est donc comparable à celui qui se déroule dans les feuilles des plantes grasses. Il est cependant moins rapide, aussi bien lors de l'acidification que de la désacidification ; il est également moins sensible à la température. Enfin il n'est pas caractérisé par une accumulation d'acides citrique et isocitrique. Les similitudes concernent essentiellement l'acide malique, dans son accumulation comme dans sa genèse.

3) A la lumière, comme à l'obscurité, une tension élevée d'O₂ favorise la synthèse de l'acide malique. A la lumière, tandis que les fortes tensions d'O₂ dépriment la photosynthèse, les faibles tensions d'O₂ laissent l'activité photosynthétique très intense. La synthèse des glucides utilise alors la plus grande part du pouvoir réducteur disponible et il se forme très peu d'acide malique.

L'O₂ augmente la vitesse de la β -carboxylation du PEP.

4) Lorsque des feuilles qui ont fixé du ¹⁴CO₂ à la lumière pendant 6 mn, sont ensuite placées à l'obscurité dans l'oxygène pur, il se produit une redistribution des métabolites radioactifs formés à la lumière. Les oses phosphorylés se déphosphorylent et donnent naissance à du saccharose. Une partie des acides aminés de la fraction soluble est intégrée dans les protéines de la fraction insoluble. Le PEP est β -carboxylé. Le cycle des acides tricarboxyliques fonctionne activement et les acides citrique, glutamique et succinique deviennent radioactifs.

Lorsque des feuilles enrichies en glucides radioactifs, par pré-illumination en présence de ¹⁴CO₂, sont ensuite placées à l'obscurité dans N₂, les glucides sont dégradés par voie anaérobie et il s'accumule à leurs dépens de l' α -alanine et de l'acide succinique radioactifs.

La redistribution, à la lumière, de la radioactivité fixée préalablement au cours de la photosynthèse, bien que sensible, est toujours lente quelle que soit la tension partielle d'O₂. En présence d'N₂, à la lumière, l'O₂ dégagé par la photosynthèse résiduelle suffit à empêcher la dégradation anaérobie des glucides que l'on peut observer à l'obscurité. En particulier, il n'y a pas accumulation d'acide succinique.

5) Le métabolisme de l'acide tartrique est beaucoup plus lent que celui de l'acide malique.

L'acide tartrique ne présente pas de variations quantitatives nycthémérales. La teneur en acide tartrique ne diminue pas après un éclaircissement prolongé et n'augmente pas lorsque l'atmosphère est enrichie en CO_2 .

Après 1 h de photosynthèse en présence de $^{14}\text{CO}_2$, l'acide tartrique ne devient pas radioactif.

Lorsque des feuilles enrichies en glucides marqués par une fixation photosynthétique de $^{14}\text{CO}_2$ pendant une durée courte (6 mn) ou longue (1 h), sont ensuite placées, pendant 4 h, à l'obscurité, en présence d' O_2 pur, il se forme de l'acide tartrique radioactif.

Dans les périodes employées (3 à 5 h) la formation d'acide tartrique radioactif dans des feuilles adultes n'a été obtenue qu'en présence d'une tension d'oxygène élevée (1).

6) On peut de même obtenir la formation d'acide tartrique radioactif en faisant absorber aux feuilles du glucose U^{14}C en présence d' O_2 pur.

Par contre, il ne se forme pas d'acide tartrique marqué dans les feuilles alimentées en acétate 2^{14}C alors que les acides organiques du cycle tricarboxylique sont devenus très radioactifs. La genèse de l'acide tartrique est donc indépendante de celle de l'acide malique et des oxydations du cycle tricarboxylique.

Il se forme vraisemblablement par une voie d'oxydation directe des oses.

(1) En cours d'édition, j'ai obtenu une synthèse d'acide tartrique avec des feuilles jeunes de *Pelargonium zonale* alimentées en glucose U^{14}C en présence d'air (20% d' O_2).

BIBLIOGRAPHIE

- BANDURSKI (R.S.), 1955. — Further studies on the enzymatic synthesis of oxalacetate from phosphorylenolpyruvate and carbon dioxide. *J. Biol. Chem.*, **217**, 137-150.
- BANDURSKI (R.S.) et GREINER (C.M.), 1953. — The enzymatic synthesis of oxalacetate from phosphorylenolpyruvate and carbon dioxide. *J. Biol. Chem.*, **204**, 781-786.
- BASSHAM (J.A.), BENSON (A.A.), KAY (L.D.), HARRIS (A.Z.), WILSON (A.T.) et CALVIN (M.), 1954. — The path of carbon in photosynthesis. XXI. *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 1760-1770.
- BEEVERS (H.), 1957. — Incorporation of acetate-carbon into sucrose in castor beatnissues. *Biochem. J.*, **66**, 23 p. 24 p.
- BEEVERS (H.) et GIBBS (M.), 1954. — The direct oxidation pathway in plant respiration. *Plant Physiol.*, **29**, 322-324.
- BENNET-CLARK (T.A.), 1933. — The role of organic acids in plant metabolism. I. *New Phytologist*, **32**, 37-71.
- BENSON (A.A.), 1955. — Phosphorylated sugars. Dans : « *Moderne Methoden für Pflanzenanalyse* », II, 113-144, Paech (K.) et Tracey (M.V.), éd., Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- BENSON (A.A.) et CALVIN (M.), 1950. — The path of carbon in photosynthesis. VII. *J. Exptl. Botany*, **1**, 63-68.
- BERTHELOT (M.) et ANDRÉ (G.), 1885. — Sur l'acide oxalique dans la végétation. Méthodes d'analyse. *C. R. Ac. Sc.*, **101**, 354-360.
- BIDWELL (R.G.S.), KROTKOV (G.) et REED (G.B.), 1955. — The influence of light and darkness on the metabolism of radioactive glucose and glutamine in wheat leaves. *Can. J. Botany*, **33**, 189-196.
- BONNER (W.) et BONNER (J.), 1948. — The role of carbon dioxide in acid formation by succulent plants. *Am. J. Bot.*, **36**, 113-117.
- BOULANGER (P.) et BISERTE (G.), 1950. — La chromatographie de partage. *Compt. rend. ann. biochim. méd.*, II^e série, 53-121.
- BOVE (J.) et RAVEUX (R.), 1957. — La séparation et la détermination des acides carboxyliques de C₁ à C₆ par chromatographie sur colonne de silice. II. *Bull. Soc. chim. de France*, **49**, 376-381.
- BRADBEER (J.W.), RANSON (S.L.) et STILLER (M.), 1958. — Malate synthesis in Crassulacean leaves. I. *Plant Physiol.*, **33**, 66-70.
- BRUINSMA (J.), 1958. — Studies on the crassulacean acid metabolism. *Acta Botan. Neerl.*, **7**, 531-588.
- BUCH (M.L.), MONTGOMERY (R.) et PORTER (W.L.), 1952. — Identification of organic acids on paper chromatograms. *Annal. Chem.*, **24**, 489-491.
- CALVIN (M.), 1956. — The photosynthetic carbon cycle. Dans : « *Proc. 3rd Internat. Congr. Biochem.*, Brussels, 1955 ». 211-225. New-York, Acad. Press., 1956.

- CALVIN (M.) et MASSINI (P.), 1952. — The path of carbon in photosynthesis. *Experientia*, **8**, 445-457.
- CARLES (J.), SCHNEIDER (A.) et LACOSTE (A.M.), 1958. — Contribution à l'étude chromatographique des principaux acides organiques. *Bull. Soc. chim. biol.*, **40**, 221-232.
- CARPENTER (W.D.) et BEEVERS (H.), 1959. — Distribution and properties of isocitritase in plants. *Plant Physiol.*, **34**, 403-409.
- CHAMPIGNY (M.L.), 1956. — L'incorporation de $^{14}\text{CO}_2$ dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger en photosynthèse. *C. R. Ac. Sc.*, **243**, 83-85.
- CHAMPIGNY (M.L.), 1960. — L'influence de la lumière sur la genèse des acides aminés dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger. *Rev. gén. botan.*, **67**, 65-216.
- CHAMPIGNY (M.L.), JOLCHINE (G.) et MOYSE (A.), 1957. — Sur la distribution de $^{14}\text{CO}_2$ fixé par photosynthèse et par β -carboxylation dans les feuilles de *Bryophyllum*. *Conf. int. Radioisotopes Rech. Sc.*, Unesco, Paris, 1957, Pergamon Press, 1958, 458-470.
- CHEFTEL (R.I.), MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.), 1952. — Microchromatographie sur papier des acides aliphatiques hydrosolubles et non volatils. II. *Bull. Soc. chim. biol.*, **34**, 380-387.
- CLENDENNING (K.A.), WAYGOOD (E.R.) et WEINBERGER (P.), 1952. — The carboxylases of leaves and their role in photosynthesis. *Can. J. Botany*, **30**, 395-409.
- CONN (E.), VENNESLAND (B.) et KRAEMER (L.M.), 1949. — Distribution of a triphosphopyridine nucleotide. *Arch. Biochem.*, **23**, 179-197.
- CONSDEN (R.), GORDON (A.H.) et MARTIN (A.J.P.), 1944. — Qualitative analysis of proteins : a partition chromatographic method using paper. *Biochem. J.*, **38**, 224-232.
- DARDART (J.), 1958. — Influence de la pré-illumination sur la synthèse des glucides libres dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger. *C. R. Ac. Sc.*, **246**, 301-303.
- DENT (C.E.), 1948. — A study of the behaviour of some sixty amino-acids and other ninhydrin-reacting substances on phenol-collidine filter-paper chromatograms with notes as to the occurrence of some of them in biological fluids. *Biochem. J.*, **43**, 169-180.
- DOYLE (W.P.), HUFF (R.) et WANG (C.H.), 1960. — Role of glyoxylate in biosynthesis of acids in tomato fruit. *Plant Physiol.*, **35**, 745-750.
- EBERHARDT (G.) et SCHUBERT (W.J.), 1956. — Investigations on lignin and lignification. XVII. *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 2835-2837.
- FINK (R.M.) et FINK (K.), 1948. — Radio-carbon and filter paper partition chromatography. *Science*, **107**, 253-254.
- FRANCK (J.) et FRENCH (C.S.), 1941. — Photooxidation processes in plants. *J. Gen. Physiol.*, **25**, 309-324.
- FUJITA (K.), 1959. — The metabolism of acetate in *Chlorella* cells. *J. Biochem.*, **46**, 253-268.

- GARNIER-DARDART (J.), 1959. — Sur l'incorporation de $^{14}\text{CO}_2$ dans les glucides phosphorylés et les glucides libres de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger, en photosynthèse, après pré-illumination. *C. R. Ac. Sc.*, **248**, 1386-1389.
- GIBBS (M.), 1951. — The position of ^{14}C in sunflower leaf metabolites after exposure of leaves to short period photosynthesis and darkness in an atmosphere of $^{14}\text{CO}_2$. *Plant Physiol.*, **26**, 549-556.
- GIBBS (M.) et HORECKER (B.L.), 1954. — The mechanism of pentose phosphate conversion to hexose monophosphate. II. *J. Biol. Chem.*, **208**, 813-820.
- GILVARG (C.) et BLOCH (K.), 1952. — Utilisation of glucose I^{14}C for the synthesis of phenylalanine et tyrosine. *J. Biol. Chem.*, **199**, 689-698.
- GYR (J.), 1956. — Les acides organiques des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. et leurs variations en fonction de la durée de l'éclairement. *C. R. Ac. Sc.*, **242**, 1203-1204.
- GYR (J.), 1958. — La fixation de gaz carbonique par les feuilles de *Pelargonium peltatum* L. à la lumière et à l'obscurité. *C. R. Ac. Sc.*, **246**, 454-456.
- GYR (J.), 1959. — Oxydations respiratoires et β -carboxylation chez le *Pelargonium peltatum* L., en fonction de la tension d'oxygène. *C. R. Ac. Sc.*, **248**, 445-447.
- GYR (J.), 1960. — Sur la synthèse de l'acide tartrique par des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. alimentées en glucose U^{14}C ou en $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$. *C. R. Ac. Sc.*, **251**, 263-265.
- HAIDRI (S.Z.A.), 1955. — Incorporation of malic acid- 2-C^{14} and pyruvic acid- 2-C^{14} in starch, *Plant Physiol.*, **30**, Suppl. IV.
- HANES (C.S.) et ISHERWOOD (F.A.), 1949. — Separation of the phosphoric esters in the filter paper chromatogram. *Nature*, **164**, 1107-1112.
- HATTORI (S.), YOSHIDA (S.) et HASEGAWA (M.), 1954. — Occurrence of shikimic acid in the leaves of Gymnosperms. *Physiol. Plantarum*, **7**, 283-289.
- HILLIS (W.E.), 1959. — Shikimic acid in the leaves of *Eucalyptus sieberiana* F. Muell. *J. Exptl. Botany*, **10**, 87-89.
- HORECKER (B.L.), 1958. — Le cycle des pentoses et sa signification physiologique. *Bull. Soc. chim. biol.*, **40**, 555-578.
- JACKSON (R.W.), KOEPEL (H.J.), LOCKWOOD (L.B.), NELSON (G.E.N.) et STODOLA (F.H.), 1949. — Bacterial oxydation of sugars and metabolic intermediates. *Int. Cong. Biochem., Abstr. of Com.*, 1st Cong. Cambridge, 536-537.
- JOLCHINE (G.), 1956. — Les acides organiques des feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger. *Bull. Soc. chim. biol.*, **38**, 481-493.
- JOLCHINE (G.), 1959. — Sur la distribution du ^{14}C dans les molécules d'acide synthétisées par fixation de $^{14}\text{CO}_2$ dans les feuilles de *Bryophyllum Daigremontianum* Berger. *Bull. Soc. chim. biol.*, **41**, 227-234.
- KÄRBER (W.), 1958. — Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. Birkhäuser Verlag, Bâle et Stuttgart.

- KATZ (J.) et CHAIKOFF (I.L.), 1954. — A chromatographic radio-graphic method for study of acetate utilization in animal tissues. *J. Biol. Chem.*, **206**, 687-900.
- KHESGHI (S.), ROBERTS (H.R.) et BUCEK (W.), 1954. — Studies on the production of 5 ketogluconic acid by *Acetobacter suboxydans*. *Appl. Microbiol.*, **2**, 183-190.
- KLEIN (G.), 1932. — Handbuch der Pflanzenanalyse II, Julius Springer Verlag, Vienne.
- KLENSTRAND (R.) et NORDAL (A.), 1950. — A spraying reagent for paper chromatograms which is apparently specific for ketoheptoses. *Acta Chem. Scand.*, **4**, 1320.
- KORNBERG (H.L.), 1959. — Aspects of terminal respiration in micro-organisms. *Ann. Rev. Microbiol.*, **13**, 49-78.
- KORNBERG (H.) et KREBS (H.A.), 1957 a. — Synthesis of cell constituents from C_2 -units by a modified tricarboxylic acid cycle. *Nature*, **179**, 988-991.
- KORNBERG (H.L.) et BEEVERS (H.), 1957 b. — The glyoxylate cycle as a stage in the conversion of fat to carbohydrate in castor beans. *Biochim. et Biophys. Acta*, **26**, 531-537.
- KROTKOV (G.), VITTORIO (P.V.) et REED (G.B.), 1954. — Synthesis of glucose and starch by Tobacco leaves from $HC^{14}OOH$, $CH_3C^{14}OOH$, $CH_2CHOHC^{14}OOH$, $C^{14}H_3 - CHO - COOH$ and $C_5H_6C^{14}OOH$. *Arch. Biochem. Biophys.*, **51**, 147.
- KUNITAKE (H.) et SALTMAN (P.), 1958. — Dark fixation of CO_2 by succulent leaves : conservation of the dark fixed CO_2 under diurnal conditions. *Plant Physiol.*, **33**, 400-403.
- LA FORGE (F.B.) et HUDSON (C.S.), 1917. — Sedoheptose, a new sugar from *Sedum spectabile*. *J. Biol. Chem.*, **30**, 61.
- LIEBERMANN (H.), RAMSTAD (E.), CHRISTIAN (J.E.), 1956 — Study of glycolic acid metabolism in *Bryophyllum calycinum* Salisb. *J. Am. Pharm. Ass.*, **45**, 295-300.
- MARTIN (W.R.) et FOSTER (J.W.), 1955. — Production of trans-L-epoxysuccinic acid by fungi and its microbiological conversion to meso-tartaric acid. *J. Bacteriol.*, **70**, 405-414.
- MERRETT (M.J.) et SYRETT (P.J.), 1960. — The relationship between glucose oxidation and acetate oxidation in *Chlorella vulgaris*. *Physiol. Plantarum*, **13**, 237-249.
- MILHAUD (G.), BENSON (A.A.) et CALVIN (M.), 1956. — Metabolism of pyruvic acid $2-^{14}C$ and hydroxypyruvic acid $2-^{14}C$ in algae. *J. Biol. Chem.*, **218**, 599-606.
- MOLLIARD (M.), 1923. — Nutrition de la plante III. Encyclopédie scientifique, Doin, éd., Paris.
- MONTANT (Ch.), 1959. — Etude anatomique et physiologique du parasitisme des Urédinées chez les Euphorbiacées. Thèse Faculté Sci. Toulouse.
- MOSES (V.), HOLM-HANSEN (O.), BASSHAM (J.A.) et CALVIN (M.), 1959. — The relationship between the metabolic pools of photosynthetic and respiratory intermediates. *J. Mol. Biol.*, **1**, 21-29.
- MOYSE (A.), 1950. — Respiration et métabolisme azoté. Herman et C^{ie} éd. Paris, 210 p.

- MOYSE (A.), 1955 a. — Le métabolisme des acides organiques chez le *Bryophyllum* (Crassulacées) I — *Physiol. Plantarum*, **8**, 453-477.
- MOYSE (A.), 1955 b. — Le métabolisme des acides organiques chez le *Bryophyllum* (Crassulacées) II. *Physiol. Plantarum*, **8**, 478-492.
- MOYSE (A.), 1957. — Les caractéristiques du métabolisme des Crassulacées, variations de l'acidité foliaire ; genèse des acides organiques par β -carboxylation. *Bull. Soc. franç. physiol. végétale*, **3**, 1 II.
- MOYSE (A.), 1959. — Quelques aspects de la photosynthèse en liaison avec le métabolisme des acides organiques et des acides aminés. *Fiziol. Rastenii Akad. Nauk. S.S.S.R.*, **6**, 274-283.
- MOYSE (A.) et JOLCHINE (G.), 1956. — Les variations quantitatives des acides organiques des feuilles de *Bryophyllum*, à l'obscurité et à la lumière, en fonction de la tension partielle de l'oxygène. *Bull. Soc. chim. biol.*, **38**, 761-784.
- MOYSE (A.) et JOLCHINE (G.), 1957. — L'action de la lumière sur la β -carboxylation et les oxydations dans les feuilles de *Bryophyllum*. *Bull. Soc. chim. biol.*, **39**, 725-745.
- MUKHERJEE (S.) et SRIVASTAVA (H.C.), 1952. — Improved spray reagen for the detection of sugars. *Nature*, **169**, 330.
- NAYLOR (A.W.) et TOLBERT (N.E.), 1956. — Glutamic acid metabolism in green and etiolated Barley leaves. *Physiol. Plantarum*, **9**, 220-229.
- NELSON (E.K.), 1925. — The non-volatile acids of the black-berry. *J. Amer. Chem. Soc.*, **47**, 568-572.
- NORDAL (A.), 1942. — Organic Crassulaceae acids. I. *Medd. Norsk farmak. Selsk.*, **5**, 129-148.
- OCHOA (S.), 1951. — Biosynthesis of dicarboxylic and tricarboxylic acids by carbon dioxide fixation. *Symp. Soc. Exptl. biol. Cambridge Univ. Press.*, 29-51.
- OCHOA (S.), 1953. — Carbon dioxide fixation in animal and plants. *Bull. Soc. chim. biol.*, **35**, 83-99.
- OCHOA (S.), MEHLER (A.) et KORNBERG (A.), 1947. — Reversible oxidative decarboxylation of malic acid. *J. Biol. Chem.*, **167**, 871-872.
- PARTRIDGE (S.M.), 1948. — Filter paper partition chromatography of sugars. *Biochem. J.*, **42**, 238-249.
- POUVIER (V.), 1959. — Sur la recherche des acides quinique et shikimique chez quelques Gymnospermes. *Compt. rend.*, **249**, 1563-1565.
- POUVIER (V.), 1960. — Sur la recherche des acides quinique et shikimique chez quelques Anacardiées. *Compt. rend.*, **250**, 1721-1723.
- POBEGUIN (T.), 1943. — Les oxalates de calcium chez quelques Angiospermes. *Ann. Sc. nat. Botan.*, **4**, 1-95.
- POEL (L.W.), 1952. — Fixation of carbon dioxide by Barley roots. *Nature*, **169**, 501-502.
- PUCHER (G.W.), 1942. — The organic acids of the leaves of *Bryophyllum calycinum*. *Biol. Chem.*, **145**, 511-523.

- PUCHER (G.W.), LEAVENWORTH (C.R.), GINTER (W.D.) et VICKERY (H.B.), 1947. — Studies in the metabolism of Crassulacean plants : the diurnal variation in organic acid and starch content of *Bryophyllum calycinum*. *Plant. Physiol.*, **22**, 360-376.
- PUCHER (G.W.), VICKERY (H.B.), ABRAHAMS (M.D.) et LEAVENWORTH (C.S.), 1949. — Studies in the metabolism of Crassulacean plants : Diurnal variations of organic acids and starch in excised leaves of *Bryophyllum calycinum*. *Plant Physiol.*, **24**, 610-620.
- RABATE (J.) et GOUREVITCH (A.), 1938. — Sur la présence de l'acide tartrique gauche dans les feuilles et les fruits de *Bauhinia reticulata*. *C. R. Ac. Sc.*, **206**, 1754-1756.
- RACUSEN (D.W.) et ARONOFF (S.), 1953. — Metabolism of Soybean leaves. *V. Arch. Biochem. Biophys.*, **42**, 25-40.
- RANJAN (S.) et RAJA RAO (T.), 1955. — Separation of organic acids by circular paper chromatography : diurnal variations in the organic acids content in *Pelargonium*. *Naturwissenschaften*, **42**, 581.
- RANSON (S.L.), 1953. — Zymasis and acid metabolism in higher plants. *Nature*, **172**, 252.
- RANSON (S.L.), 1954. — The use of isotopically labeled carbon dioxide in experiments bearing on two matters raised in the main body of this paper. *New Phytol.*, **53**, 28-30.
- RANSON (S.L.) et THOMAS (M.), 1960. — Crassulacean acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **11**, 81-110.
- RIBEREAU-GAYON (G.), 1959 a. — Sur l'évolution des anions organiques et des cations dans les organes de la Vigne. *C. R. Ac. Sc.*, **24**, 3481-3483.
- RIBEREAU-GAYON (G.), 1959 b. — Sur la genèse des acides organiques de la Vigne. *C. R. Ac. Sc.*, **25**, 3606-3608.
- RICHARDSON (A.) et HULME (A.C.), 1955. — Shikimic acid in grass. *Nature*, **175**, 43.
- SALTMAN (P.), KUNITAKE (G.), SPOLTER (H.) et STITTS (C.), 1956. — The dark fixation of CO₂ by succulent leaves : the first products. *Plant Physiol.*, **31**, 464-468.
- SAUSSURE (L. de), 1804. — Recherches chimiques sur la végétation. Reprod. en fac-similé, Gauthier-Villars, éd., 1957, Paris.
- SLATER (W.G.) et BEEVERS (H.), 1958. — Utilization of D-glucuronate by corn coleoptiles. *Plant Physiol.*, **33**, 146-151.
- SMITH (R.A.) et GUNSALUS (I.C.), 1954. — Isocitritase : a new tricarboxylique acid cleavage system. *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5002-5003.
- SOMERS (G.F.), 1951. — The influence of light, temperature and some enzyme poisons upon the total organic acid content of leaf tissue of *Kalanchoë Daigremontiana*. *Plant Physiol.*, **26**, 1-18.
- STAFFORD (H.A.), 1957. — Tartaric acid deshydrogenase activity in higher plants. *Plant Physiol.*, **32**, 338-345.
- STAFFORD (H.A.), 1958. — The distribution and possible metabolic origin of tartrate in Angiosperms. *Plant Physiol.*, **33**, XXXIV.

- STAFFORD (H.A.), 1959. — Distribution of tartaric acid in the leaves of certain Angiosperms. *Am. J. Botany*, **46**, 347-352.
- STAFFORD (H.A.) et LOEWUS (F.A.), 1958. — The fixation of $C^{14}O_2$ into tartaric and malic acids of excised grape leaves. *Plant Physiol.*, **33**, 194-199.
- SRINIVASAN (P.R.), KATAGIRI (M.) et SPRINSON (D.B.), 1955. — The enzymatic synthesis of shikimic acid from d-erythrose-4-phosphate and phosphoenolpyruvate. *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 4943-4944.
- STUTZ (R.E.) et BURRIS (R.H.), 1951. — Photosynthesis and metabolism of organic acids in higher plants. *Plant Physiol.*, **26**, 226-243.
- TCHEN (T.T.) et VENNESLAND (B.), 1955. — Enzymatic carbon dioxide fixation into oxalacetate in wheat germ. *J. Biol. Chem.*, **213**, 533-546.
- THIMANN (K.V.) et BONNER (W.), 1950. — Organic acid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **1**, 75-108.
- THOMAS (M.), 1949. — Physiological studies on acid metabolism in green plants. I. *New Phytologist*, **48**, 390-416.
- THOMAS (M.), 1951 a. — Vegetable acids in higher plants. *Endeavour*, **10**, 160-165.
- THOMAS (M.), 1951 b. — Carbon dioxide fixation and acid synthesis in Crassulacean acid metabolism. Dans « *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, V. *Carbon dioxide fixation and photosynthesis* », 74-93. Cambridge Univ. Press.
- THOMAS (M.) et BEEVERS (H.), 1949. — Physiological studies on acid metabolism in green plants. II. *New Phytologist*, **48**, 390-420.
- THOMAS (M.) et RANSON (L.), 1954. — Physiological studies on acid metabolism in green plants. III. *New Phytologist*, **53**, 1-30.
- THURLOW (J.) et BONNER (J.), 1948. — Fixation of atmospheric CO_2 in the dark by leaves of *Bryophyllum*. *Arch. Biochem.*, **19**, 509-511.
- TOLBERT (N.E.) et COHAN (M.S.), 1953. — Products formed from glycolic acid in plants. *J. Biol. Chem.*, **204**, 649-654.
- TURNER (J.S.), TURNER (J.F.), SHORTMAN (K.D.) et KING (J.E.), 1948. — *Australian J. Biol. Sci.*, **11**, 336.
- UTTER (M.F.) et KURAHASHI (K.), 1954. — Purification of oxalacetic carboxylase from chicken liver. *J. Biol. Chem.*, **207**, 787-802.
- UTTER (M.F.) et KEECH (D.B.), 1960. — Formation of oxalacetate from pyruvate and CO_2 . *J. Biol. Chem.*, **235**, PC 17.
- VARNER (J.E.) et BURRELL (R.C.), 1950. — Use of ^{14}C in the study of the acid metabolism of *Bryophyllum calycinum*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **25**, 280-287.
- VENNESLAND (B.), 1949. — The β -carboxylases of plants. II. *J. Biol. Chem.*, **178**, 591-597.
- VENNESLAND (B.), GOLLUB (M.C.) et SPECK (J.F.), 1949. — The β -carboxylases of plants. I. *J. Biol. Chem.*, **178**, 301-314.
- VENNESLAND (B.) et CONN (E.E.), 1952. — Carboxylating enzymes in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **3**, 307-332.

- VERCIER (P.), CRONENBERGER (L.), VALLET (C.), VILLE (A.) et MENTZER (C.), 1956. — Biosynthèse de l'acide glutamique radioactif par les feuilles de Merisier. *Bull. Soc. Chim. biol.*, **38**, 751-759.
- VICKERY (H.B.), 1952. — The behaviour of isocitric acid in excised leaves of *Bryophyllum calycinum* during culture in alternating light and darkness. *Plant Physiol.*, **27**, 9-17.
- VICKERY (H.B.), 1953. — The behaviour of the organic acids and starch of *Bryophyllum* leaves during culture in continuous light. *J. Biol. Chem.*, **205**, 369-381.
- VICKERY (H.B.), 1957. — The metabolism of the organic acids of tobacco leaves. XIV. *J. Biol. Chem.*, **227**, 943-949.
- VICKERY (H.B.), PUCHER (G.W.), SCHOENHEIMER (R.) et RITTENBERG (D.), 1940. — The assimilation of ammonia nitrogen by the tobacco plant : a preliminary study with isotopic nitrogen. *J. Biol. Chem.*, **135**, 531-539.
- VICKERY (H.B.) et PALMER (J.K.), 1954. — The metabolism of the organic acids of tobacco leaves. VII. *J. Biol. Chem.*, **207**, 275-285.
- VITTORIO (P.V.), KROTKOV (G.) et REED (G.B.), 1954. — Synthesis of radioactive sucrose by tobacco leaves from C¹⁴ uniformly labelled glucose et glucose-1-phosphate. *J. Botany*, **32**, 369-377.
- WAEELSCH (H.), 1952. — Certain aspects of intermediary metabolism of glutamine, asparagine, and glutathione. *Advances in Enzymol.*, **13**, 237-319.
- WALKER (D.A.), 1956. — Malate synthesis in a cell-free extract from a crassulacean plant. *Nature*, **178**, 593-594.
- WALKER (D.A.), 1957. — Physiological studies on acid metabolism in green plants. IV. *Biochem. J.*, **67**, 73-79.
- WANG (C.H.), HANSEN (E.) et CHRISTENSEN (B.E.), 1953. — Conversion of C¹⁴ labelled acetate to citric and malic acids in the tomato fruit. *Plant Physiol.*, **28**, 741-745.
- WARBURG (O.), 1920. — Ueber die Geschwindigkeit der photochemischen Kohlensäurezersetzung in lebenden Zellen. II. *Biochem. Z.*, **103**, 188-217.
- WARBURG (O.), KLOTZSCH (H.) et KRIPPAHL (G.), 1957. — Glutaminsäure- Decarboxylase in *Chlorella* - *Naturwissenschaften*, **44**, 235.
- WASSINK (E.C.), VERMEULEN (D.), REMAN (G.H.) et KATZ (E.), 1938. — On the relation between fluorescence and assimilation in photosynthesizing cells. *Enzymologia*, **5**, 100-109.
- WEISSBACH (A.) et HORECKER (B.L.), 1955. — The formation of glycine from ribose-5-phosphate. Dans : « *Amino acid Metabolism*, 741-742. M. Elroy (W.D.) et Glass (B.), éd., J. Hopkins Press. Baltimore.
- WERKMAN (C.H.) et WOOD (H.G.), 1942. — Heterotrophic assimilation of carbon dioxide. *Advances in Enzymol.*, **2**, 135-182.
- WOLF (J.), 1931. — Beitrag zur Kenntnis der Säurestoffwechsels succulenter Crassulacean. *Planta*, **15**, 572-644.
- WOLFF (J.), 1938. — Beitrag zur Kenntnis der Säurestoffwechsels succulenter Crassulacean. III. *Planta*, **28**, 60-86.

- WOLF (J.), 1939. — Beitrag zur Kenntnis der Säurestoffwechsels succulenter Crassulacean. IV. *Planta*, **29**, 314-324.
- WOLF (J.), 1949. — Beitrag zur Kenntnis der Säurestoffwechsels succulenter Crassulacean. *Planta*, **37**, 510-532.
- WOLF (J.). 1960. — Der diurnale säurerhythmus dans : « *Handbuch der Pflanzenphysiologie* XII, », 809-899. Ruhland (W.), éd., Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- WONG (D.T.O.) et AJL (S.J.), 1956. — Conversion of acetate and glyoxylate to malate. *J. Am. Chem. Soc.*, **78**, 3230-3231.
- WOOD (H.G.), 1951. — A consideration of some reactions involving carbon dioxide fixation. *Symposia Soc. Exptl. Biol.*, V. *Carbon dioxide fixation and photosynthesis*. Cambridge Univ. Press. 9-28.
- YAMAMOTO (Y.) et BEEVERS (H.), 1960. — Malate synthetase in higher plants. *Plant Physiol.*, **35**, 102-108.
- YOSHIDA (S.) et HASAGAWA (M.), 1957. — A microcolorimetric method for the determination of shikimic acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, **70**, 377-381.
- ZBINOWSKY (V.) et BURRIS (R.H.), 1952. — Metabolism of infiltrated organic acids by Tobacco leaves. *Plant Physiol.*, **27**, 240-250.
- ZELITCH (I.) et OCHOA (S.), 1953. — Oxidation and reduction of glycolic and glyoxylic acids in plants. I. *J. Biol. Chem.*, **201**, 707-718.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	5
INTRODUCTION	7
I. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FEUILLES DE GÉRANIACÉES.	7
II. — LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES DANS LES FEUILLES DE CRASSULACÉES.	8
MÉTHODES ET TECHNIQUES	13
I. — TRAITEMENT DES FEUILLES DÉTACHÉES	13
II. — ANALYSES	13
A) FIXATION - EXTRACTIONS - FRACTIONNEMENTS	13
B) ANALYSE DE L'EXTRAIT SOLUBLE	14
1) <i>Séparation par chromatographie sur papier et caractérisations</i>	14
a) Glucides libres	14
b) Acides aminés	14
c) Acides organiques et composés phosphorylés	15
2) <i>Dosage des acides organiques</i>	16
a) Dosage de l'acidité libre et de l'acidité totale... ..	16
b) Dosage des acides organiques après séparation par chromatographie sur colonne de silice	16
3) <i>Techniques particulières à l'analyse des composés radioactifs</i>	16
C) ANALYSE DE LA FRACTION INSOLUBLE	17
1) <i>Protéines</i>	17
2) <i>Oxalates insolubles</i>	17
D) PRÉCISION GÉNÉRALE DES MESURES	17
EXPÉRIENCES ET RÉSULTATS	19
A. — LES PRINCIPAUX CONSTITUANTS ORGANIQUES SOLUBLES DES FEUILLES DE <i>PELARGONIUM PELTATUM</i> L.	19
B. — LE MÉTABOLISME DE L'ACIDE MALIQUE DANS LES FEUILLES DE <i>PELARGONIUM PELTATUM</i> L. ANALOGIES AVEC LE MÉTABOLISME DES CRASSULACÉES. ..	22
EXPÉRIENCE I A	22
EXPÉRIENCE I B	24
EXPÉRIENCE I C	25
DISCUSSION	26
1) <i>Désacidification à la lumière</i>	26
2) <i>Acidification à la lumière et à l'obscurité</i>	27
C. — LA β -CARBOXYLATION DANS LES FEUILLES DE <i>PELARGONIUM PELTATUM</i> L.	27
EXPÉRIENCE II	27
1) <i>La fixation du $^{14}\text{CO}_2$ et la radioactivité des différents groupes de substances</i>	27

2) La radioactivité des différents métabolites et le mécanisme de leur synthèse	28
a) La β -carboxylation et la photosynthèse	28
b) Le cycle des acides tricarboxyliques	31
c) L'acide tartrique	32
CONCLUSIONS	32
D. — LA β -CARBOXYLATION ET LA PHOTOSYNTHESE DANS LES FEUILLES DE <i>PELARGONIUM PELTATUM</i> L. EN FONCTION DE LA TENSION PARTIELLE D'OXYGÈNE.	33
EXPÉRIENCE III	33
1) La fixation du radiocarbone dans les différents groupes de substances	33
2) La radioactivité des principaux métabolites	35
a) La photosynthèse	35
b) La β -carboxylation	36
CONCLUSIONS	37
E. — OXYDATIONS RESPIRATOIRES ET β -CARBOXYLATION EN FONCTION DE LA TENSION PARTIELLE D'OXYGÈNE	37
EXPÉRIENCE IV	37
1) Action de la tension d'O ₂ , pendant une période courte, sur la fixation photosynthétique et sur la β -carboxylation à la lumière	37
2) Redistribution à l'obscurité, en présence d'O ₂ pur, de la radioactivité fixée antérieurement en 6 mn à la lumière, en présence d'N ₂ + 2 % d'O ₂	38
3) Redistribution à l'obscurité, en présence d'O ₂ pur, de la radioactivité acquise en 6 mn à la lumière en présence d'O ₂	41
4) Les conditions de la genèse de l'acide tartrique	41
CONCLUSIONS	42
F. — LE RÔLE DE L'OXYGÈNE DANS LE MÉTABOLISME DES ACIDES ORGANIQUES	42
EXPÉRIENCE V A	43
EXPÉRIENCE V B	43
1) La répartition du radiocarbone après une heure de photosynthèse	44
2) Redistribution à l'obscurité de la radioactivité fixée à la lumière	45
3) Redistribution à la lumière de la radioactivité fixée préalablement au cours de la photosynthèse	47
4) La synthèse de l'acide tartrique	48
G. — L'UTILISATION DU GLUCOSE U ¹⁴ C ET DE L'ACÉTATE ²¹⁴ C PAR LES FEUILLES DE <i>PELARGONIUM PELTATUM</i> L. DANS L'AIR ET DANS L'O ₂	48
EXPÉRIENCE VI A	48
EXPÉRIENCE VI B	49
1) Le métabolisme du glucose U ¹⁴ C à l'obscurité dans l'air et dans l'O ₂	49
2) L'utilisation de l'acétate dans le cycle des acides tricarboxyliques à l'obscurité en fonction de la tension d'O ₂	51
3) La genèse de l'acide tartrique	54
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	57
BIBLIOGRAPHIE	65
TABLE DES MATIÈRES	75

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Oligo-éléments et réactions enzymatiques
dans le métabolisme végétal.

Vu et approuvé :

Paris, le 7 juin 1961,

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS.

Vu et permis d'imprimer :

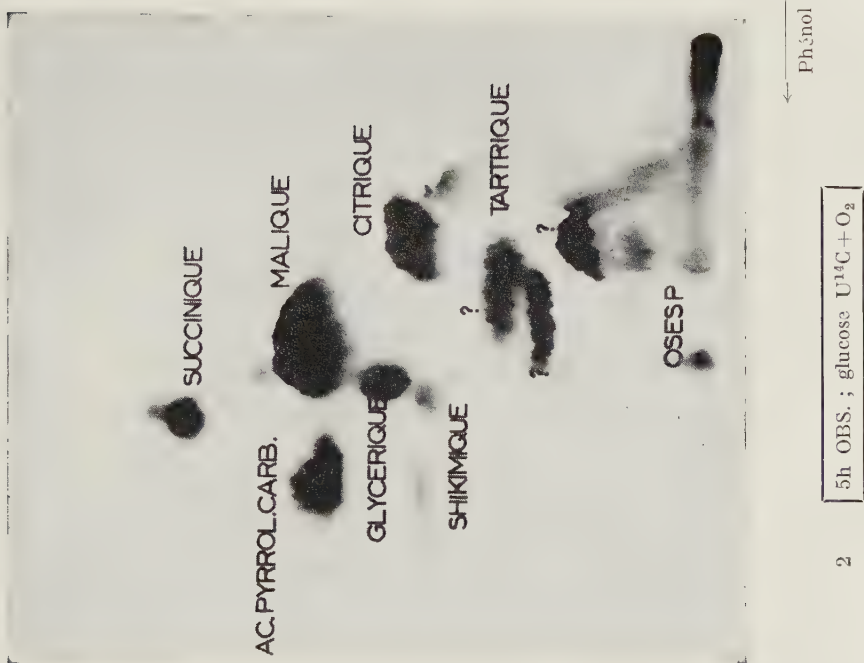
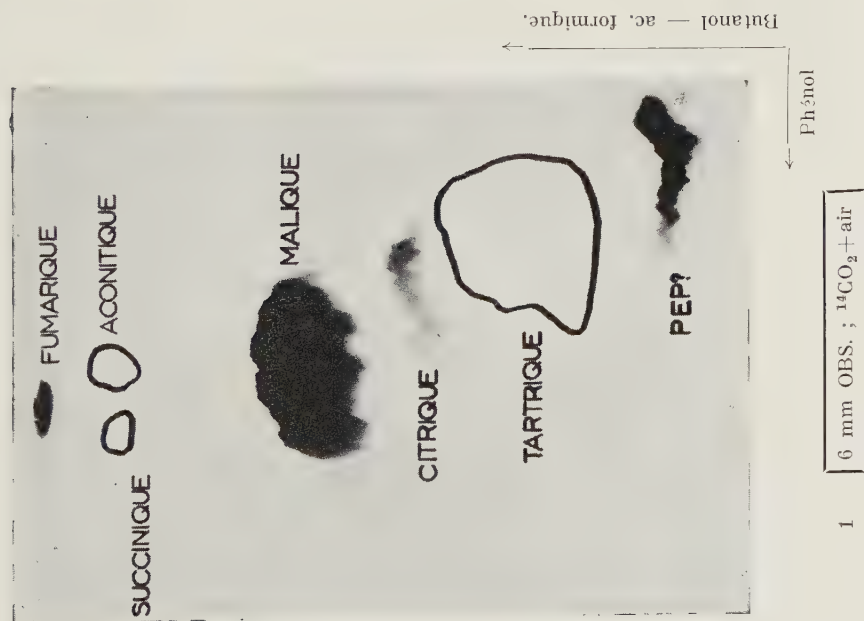
Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean SARRAILH.

EXPLICATION DE LA PLANCHE I

1. — Radiochromatogramme des acides organiques et des composés phosphorylés synthétisés à l'obscurité, en 6 mn, en présence de $^{14}\text{CO}_2$, par des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. Les taches visibles après coloration au bleu de bromophénol et non radioactives, sont cernées d'un trait.

2. — Radiochromatogramme des acides organiques et des composés phosphorylés synthétisés à l'obscurité, en 5 h, en présence d' O_2 , par des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. alimentées en glucose U^{14}C .



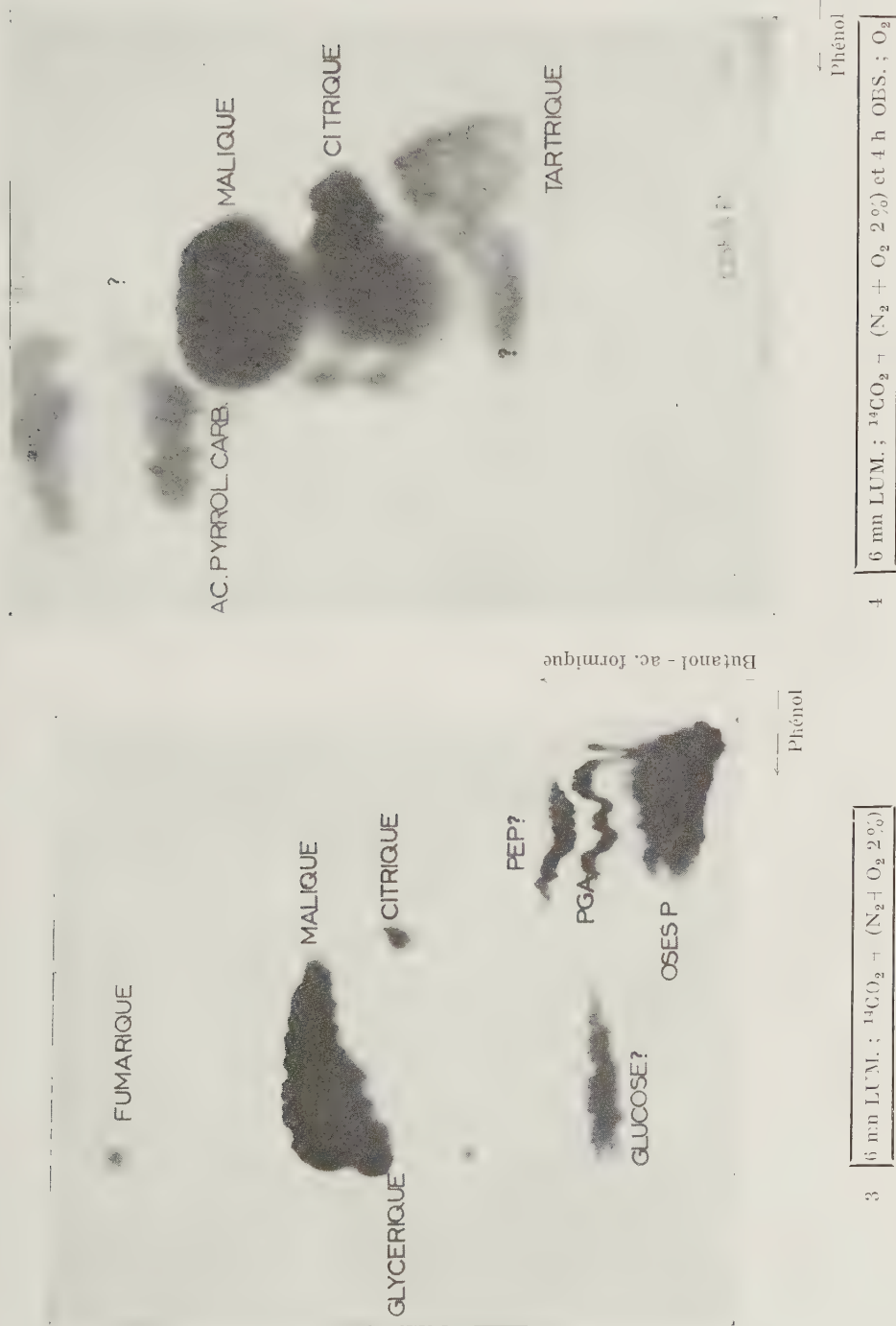
Radiochromatogrammes des acides organiques et des composés phosphorylés.

EXPLICATION DE LA PLANCHE II

3. — Lorsque des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à la lumière pendant 6 mn, l'acide malique et les composés phosphorylés sont radioactifs.

4. — Lorsque des feuilles fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à la lumière pendant 6 mn, puis sont placées à l'obscurité dans O_2 pendant 4 h, la radioactivité des composés phosphorylés devient faible. Par contre, les acides succinique, pyrrolidone-carboxylique et tartrique deviennent radioactifs et la radioactivité de l'acide citrique augmente.

Butanol - ac. formique

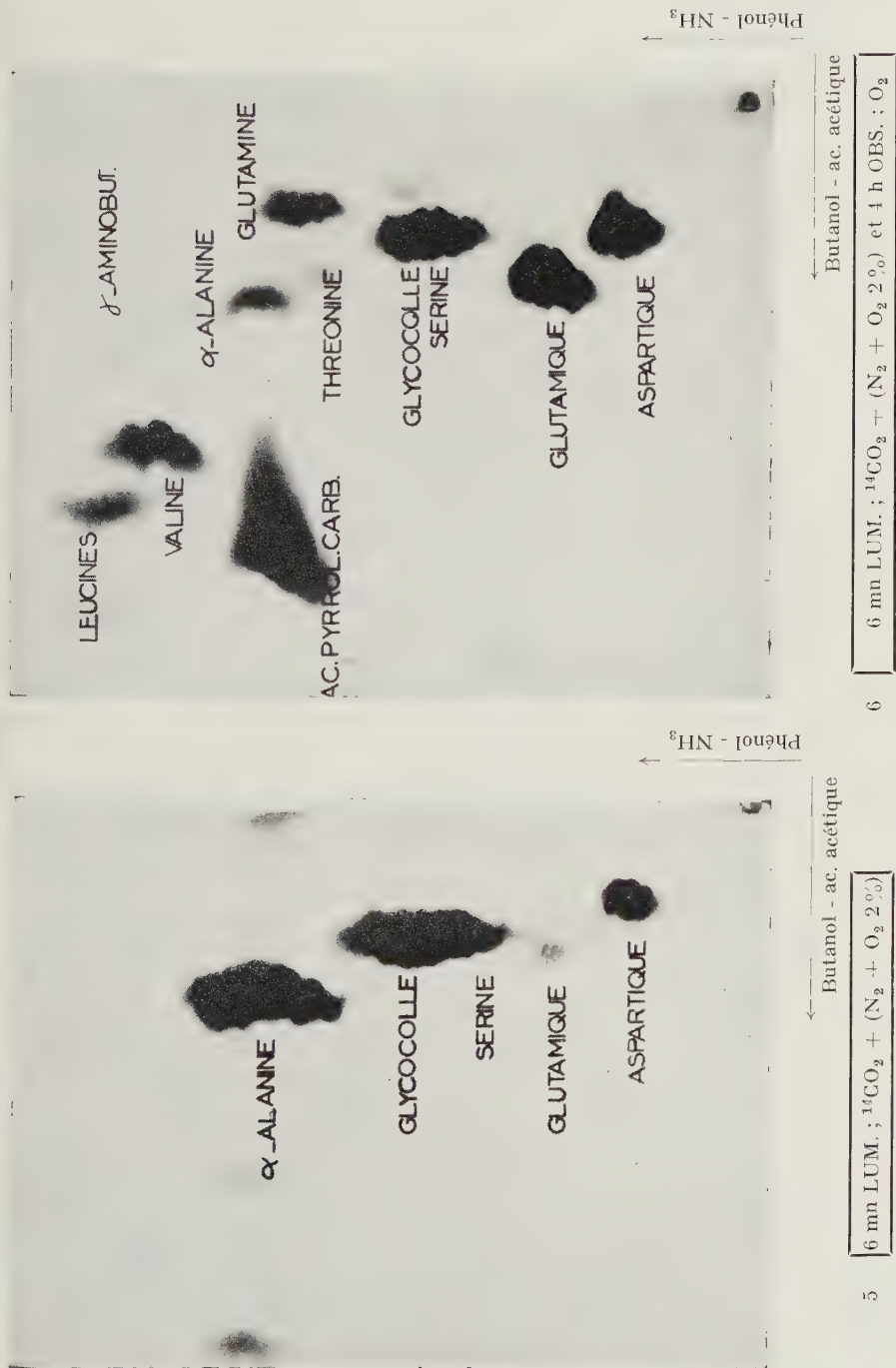


Radiochromatogrammes des acides organiques et des composés phosphorylés. — Expérience IV

EXPLICATION DE LA PLANCHE III

5. — Lorsque des feuilles de *Pelargonium peltatum* L. fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à la lumière pendant 6 mn, l'acide aspartique, l' α -alanine, la sérine et le gly-cocolle sont marqués.

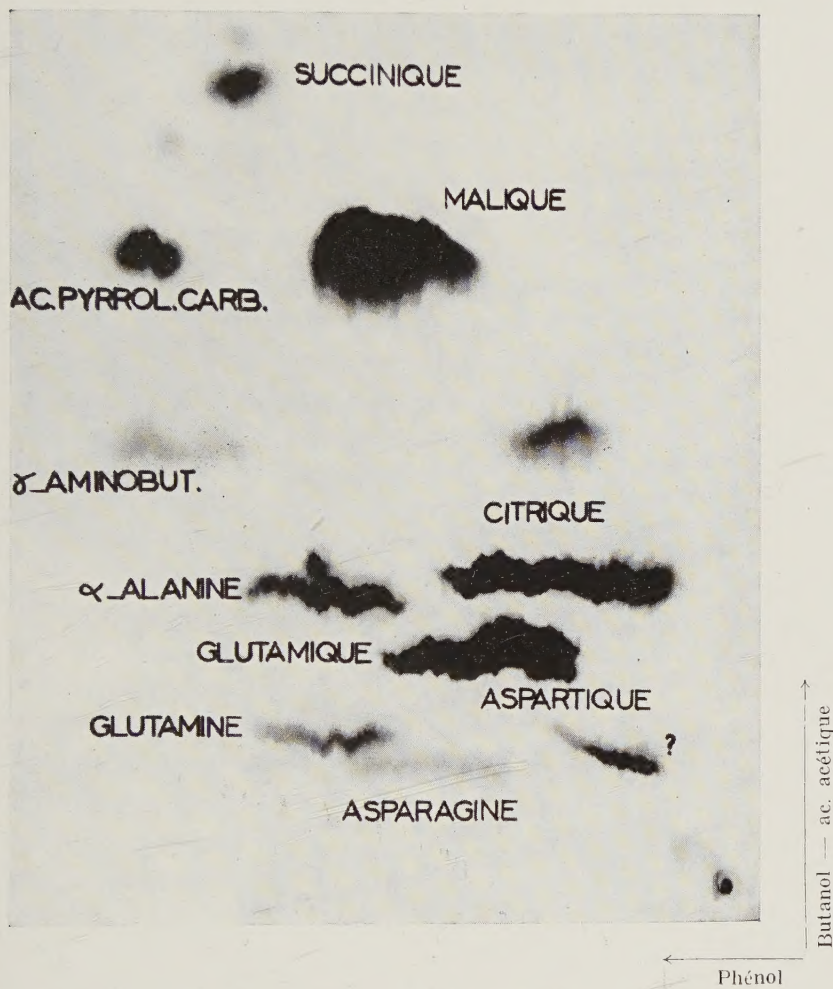
6. — Lorsque des feuilles fixent du $^{14}\text{CO}_2$ à la lumière pendant 6 mn, puis sont placées à l'obscurité dans O_2 pendant 4 h, la radioactivité de l' α -alanine, de la sérine et du gly-cocolle diminue. Par contre, l'acide gluta-mique et ses dérivés deviennent radioactifs.



Radiochromatogrammes des acides aminés. — Expérience IV.

EXPLICATION DE LA PLANCHE IV

7. — Lorsque des feuilles de *Pelargonium peltatum* L., absorbent du $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$, pendant 5 h, à l'obscurité, près de 80 % de la radioactivité de l'extrait soluble sont retrouvés dans les acides organiques et les acides aminés dérivés du cycle tricarboxylique.



7

5 h OBS. ; $^{14}\text{CH}_3\text{COONa}$

Gyr, phot.

GRIMARD, sc.

Radiochromatogramme de l'extrait soluble total — Expérience VI B

